

# UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD



TESIS DOCTORAL

**Papel de los inhibidores de mTOR en el trasplante renal:  
Análisis de riesgo/beneficio a largo plazo de las  
conversiones a inhibidores de mTOR**

PHD THESIS

**Role of mTOR inhibitors in renal transplantation: Long-term risk /  
benefit analysis of conversion to mTOR inhibitors**

Realizada por: Rosalía Valero San Cecilio

Dirigida por: Juan Carlos Ruiz San Millán y Ana Isabel Sánchez Fructuoso

Escuela de Doctorado de la Universidad de Cantabria

**Santander, Octubre de 2019**





**UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

PROGRAMA DE DOCTORADO EN MEDICINA Y CIENCIAS DE LA SALUD

**Papel de los inhibidores de mTOR en el trasplante renal:  
Análisis de riesgo/beneficio a largo plazo de las  
conversiones a inhibidores de mTOR**

**Santander, Octubre de 2019**



## INFORME FAVORABLE DE LOS DIRECTORES PARA EL DEPÓSITO DE LA TESIS DOCTORAL

D. **JUAN CARLOS RUIZ SAN MILLÁN**, DOCTOR POR LA UNIVERSIDAD DE CANTABRIA Y PROFESOR ASOCIADO DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE CANTABRIA,

DÑA. **ANA ISABEL SÁNCHEZ FRUCTUOSO**, DOCTORA POR LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID Y PROFESORA TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS Y QUIRÚRGICAS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

Director y tutor y co-Directora respectivamente, de la tesis doctoral: “PAPEL DE LOS INHIBIDORES DE mTOR EN EL TRASPLANTE RENAL: ANÁLISIS DE RIESGO/BENEFICIO A LARGO PLAZO DE LAS CONVERSIONES A INHIBIDORES DE mTOR”, del doctorando Dña. Rosalía Valero San Cecilio, estudiante de la Escuela de Doctorado de la Universidad de Cantabria, emiten informe favorable para la realización del depósito y la defensa de la tesis doctoral.

En Santander, a 26 de Septiembre de 2019



Fdo: Dr. Juan Carlos Ruiz San Millán



Fdo: Dra. Ana Isabel Sánchez Fructuoso



*Dedicada a mi familia, en especial a mi padre (+), que  
siempre me ayudó a encontrar el momento exacto.*





## AGRADECIMIENTOS

A **Juan Carlos Ruiz San Millán**, mi jefe actual y mi compañero desde mis inicios como médico. Por su ejemplo de tenacidad, buen hacer y pragmatismo envuelto en humanidad. Por su continuo apoyo en los momentos buenos y en aquéllos menos buenos.

A **Emilio Rodrigo Calabia** por su inestimable ayuda para el estudio de la variabilidad de i-mTOR y su continuo estímulo para la investigación.

A **Isabel Pérez Flores** por su labor incansable, clínica e investigadora, en todos los aspectos de la Nefrología y el Trasplante, y por su apoyo incondicional como compañera y amiga.

A **Manuel Arias Rodríguez** por ser mi primer jefe en el Servicio de Nefrología del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla.

A todos mis compañeros del ***Servicio de Nefrología*** del ***Hospital Universitario Marqués de Valdecilla*** que me acompañaron y enseñaron en los inicios de mi vida profesional, y a todos mis compañeros del ***Servicio de Nefrología*** del ***Hospital Clínico San Carlos*** de Madrid con los que crecí aún más durante casi una década, en especial a **Natividad Calvo Romero** y a **Jesús Delgado Domínguez**.

A todos los pacientes, de aquí y de allá, por todo lo que transmiten y enseñan con su gratitud y sufrimiento por la incertidumbre que tienes que asegurar.

A **Ana Sánchez Fructuoso**, mi compañera y mi jefa durante unos años. Por haberme enseñado tantas cosas en el mundo de la Nefrología, del Trasplante y de la Vida, y haberse convertido en una gran amiga. Por haber sido la luz en este ambicioso trabajo que, sin ella y sin Juan Carlos, no hubiera prosperado.

Por último, quiero agradecer el apoyo incondicional recibido por mi marido, mi madre y mis hermanos, y la paciencia infinita, cariñosa y alegre, de mis hijos **Rodrigo** y **Cayetana**. Sin ellos, sin su comprensión y sin su ayuda, nada hubiese sido posible.

## ABREVIATURAS

- Δ: diferencia
- ADEs: anticuerpos donante específicos
- AEEs: agentes estimulantes de la eritropoyesis
- AKT: proteína quinasa B (PKB)
- AT: atrofia tubular
- AT-II: angiotensina II
- BKV: virus BK
- BPARG: rechazo agudo comprobado por biopsia
- cAMR: rechazo crónico mediado por anticuerpos
- CMV: citomegalovirus
- CsA: ciclosporina A
- CV: coeficiente de variabilidad
- DCGL: pérdida de injerto censurada por muerte
- DCI: disfunción crónica del injerto
- DGF: retraso en la función del injerto
- DM: diabetes mellitus
- eGFR: tasa de filtrado glomerular estimado
- EMT: transformación epitelio-mesenquimal
- Enf CV: enfermedad cardiovascular
- ERC: enfermedad renal crónica
- EST: esteroides
- EVE: everolimus
- FG: filtrado glomerular
- FI: fibrosis intersticial
- HVI: hipertrofia de ventrículo izquierdo
- ICN: inhibidores de calcineurina
- IF/TA NOS: fibrosis intersticial/atrofia tubular sin causa específica
- i-mTOR: inhibidores de mTOR
- ITT: análisis por intención de tratar
- LVMi: índice de masa del ventrículo izquierdo

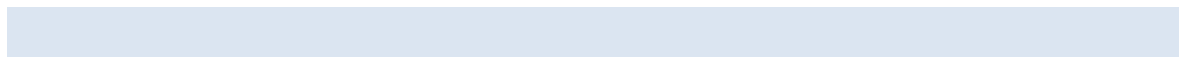
- ✚ MAPK/Ras: proteína quinasa activada por mitógeno
- ✚ MAT: microangiopatía trombótica
- ✚ MMF: micofenolato mofetilo
- ✚ MPA: ácido micofenólico
- ✚ mTOR: mammalian target of rapamycin
- ✚ mTORC1: complejo sensible a rapamicina
- ✚ mTORC2: complejo insensible a rapamicina
- ✚ NAE: nefroangioesclerosis
- ✚ NIP: neumonitis no infecciosa
- ✚ NODAT: diabetes de nueva aparición postrasplante
- ✚ NTI: nefritis tubulointersticial
- ✚ OT: análisis por tratamiento
- ✚ PI3K: fosfatidil inositol 3 quinasa
- ✚ PKB: proteína quinasa B (AKT)
- ✚ PKC: proteína quinasa C
- ✚ pl: plasmática
- ✚ PTLD: enfermedad linfoproliferativa postrasplante
- ✚ Raptor: regulatory-associated protein of mTOR
- ✚ Rheb: familia Ras de GTPasa
- ✚ Rictor: rapamycin-insensitive companion of mTOR
- ✚ SK: sarcoma de Kaposi
- ✚ SRL: sirolimus
- ✚ Superv.: supervivencia
- ✚ TAC: tacrolimus
- ✚ TAG: triglicéridos
- ✚ TFG: tasa de filtrado glomerular
- ✚ TSC1: complejo esclerosis tuberosa 1-hamartina
- ✚ TSC2: complejo esclerosis tuberosa 2-tuberina
- ✚ VEB: virus Epstein Bar
- ✚ VEGF: factor de crecimiento del endotelio vascular
- ✚ VH-8: virus herpes 8
- ✚ vs: versus

# ÍNDICE

<b>1</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>21</b>
<b>1.1</b>	<b>NEFROPATÍA CRÓNICA DEL INJERTO/DISFUNCIÓN CRÓNICA DEL INJERTO</b>	<b>23</b>
1.1.1	Nomenclatura: recorrido histórico.	23
1.1.2	Factores de riesgo.	27
1.1.3	Etiopatogenia.	29
<b>1.2</b>	<b>MUERTE CON INJERTO FUNCIONANTE</b>	<b>32</b>
<b>1.3</b>	<b>DESCUBRIMIENTO DE LOS FÁRMACOS INHIBIDORES DE mTOR: MECANISMO DE ACCIÓN Y PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS.</b>	<b>34</b>
<b>1.4</b>	<b>TOXICIDAD DE LOS i-mTOR</b>	<b>39</b>
1.4.1	Efectos secundarios leves de los i-mTOR.	41
1.4.2	Efectos secundarios potencialmente graves de los i-mTOR.	44
<b>1.5</b>	<b>VENTAJAS DE LOS FÁRMACOS i-mTOR</b>	<b>49</b>
1.5.1	Estrategias para prevenir la progresión de la DCI.	49
1.5.2	Riesgo cardiovascular.	62
1.5.3	Capacidad antitumoral	65
1.5.4	Capacidad antiviral	67
<b>1.6</b>	<b>COMBINACIÓN DE i-mTOR CON ICN</b>	<b>76</b>
<b>2</b>	<b>HIPÓTESIS DE PARTIDA</b>	<b>81</b>
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>83</b>

<b>4 MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>85</b>
4.1 Diseño del estudio.	85
4.2 Base de datos	86
4.3 Variables estudiadas	88
4.3.1 Variables independientes	88
4.3.2 Variables dependientes	89
4.4 Análisis estadístico	90
<b>5 RESULTADOS</b>	<b>93</b>
5.1 INDICACIONES PARA LA CONVERSIÓN A i-mTOR	95
5.2 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESULTADOS TRAS LA CONVERSIÓN A i-mTOR	97
5.2.1 Análisis de la Función Renal y Proteinuria en el grupo de pacientes <i>por intención de tratar</i> .	97
5.2.2 Análisis de Factores que influyen en la evolución de la función renal	103
5.3 HEMOGRAMA. Necesidades de Agentes estimulantes de la eritropoyesis.	106
5.4 PERFIL LIPÍDICO (colesterol y triglicéridos) y tratamiento con hipolipemiantes	107
5.5 SUSPENSIÓN DE FÁRMACOS i-mTOR	108
5.6 SUPERVIVENCIA DEL INJERTO	111
5.7 SUPERVIVENCIA DEL PACIENTE.	119
5.8 ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DE LOS i-mTOR Y SU RELACIÓN CON LA SUPERVIVENCIA DEL INJERTO	128

<b>6</b>	<b>DISCUSIÓN</b>	<b>135</b>
<b>6.1</b>	<b>PACIENTES CON MAYOR BENEFICIO EN TÉRMINOS DE MEJORÍA DE FUNCIÓN RENAL TRAS LA CONVERSIÓN A i-mTOR.</b>	<b>138</b>
<b>6.2</b>	<b>SUPERVIVENCIA</b>	<b>142</b>
6.2.1	SUPERVIVENCIA DEL INJERTO.	144
6.2.2	SUPERVIVENCIA DEL PACIENTE.	148
<b>6.3</b>	<b>VARIABILIDAD DE i-mTOR</b>	<b>151</b>
<b>6.4</b>	<b>EFFECTOS ADVERSOS/TASA DE SUSPENSIÓN</b>	<b>153</b>
<b>7</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	<b>157</b>
<b>8</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>159</b>







## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Risk Factors Implicated in Chronic Allograft Injury .....	27
Tabla 2 Ensayos Clínicos Multicéntricos, Prospectivos y Randomizados de conversión de ICN a i-mTOR en el trasplante renal.....	57
Tabla 3 Etiología de la enfermedad renal de base .....	94
Tabla 4. Indicaciones para la conversión a i-mTOR.....	95
Tabla 5. Tipo de Tumor .....	96
Tabla 6. Evolución de la función renal por intención de tratar .....	98
Tabla 7. Evolución de la proteinuria <i>por intención de tratar</i> .....	99
Tabla 8. Factores relacionados con la mejoría del CKD-EPI $\geq 5\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ al año de la conversión a i-mTOR en el paciente trasplantado renal - Análisis Univariado .....	104
Tabla 9. Factores relacionados con la mejoría del CKD-EPI $\geq 5\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ al año de la conversión a i-mTOR en el paciente trasplantado renal - Análisis Multivariado .....	105
Tabla 10. Causas de suspensión de imTOR .....	109
Tabla 11. Motivos de Suspensión estratificando por tipo de i-mTOR.....	110
Tabla 12. Causas de pérdida del injerto .....	112
Tabla 13 Factores relacionados con la pérdida del injerto renal en el paciente trasplantado convertido a i-mTOR. Análisis Univariado. ....	114
Tabla 14 Factores pronósticos de pérdida de injerto en el paciente trasplantado convertido a i-mTOR - Análisis Multivariado. ....	115
Tabla 15. Analisis Log-Rank por estratos para supervivencia del injerto (muerte no censurada) .....	118
Tabla 16. Comparación de la supervivencia del paciente, por estratos de causa de conversión a i-mTOR.....	120

Tabla 17. Comparación de la supervivencia del paciente, por estratos de tipo de tumor	121
Tabla 18. Edad y tiempo post-trasplante a la conversión de los diferentes tipos de tumores .....	122
Tabla 19. Factores relacionados con la mortalidad en el paciente trasplantado renal convertido a i-mTOR - Análisis Univariado.....	124
Tabla 20. Factores pronósticos de mortalidad en el paciente trasplantado renal convertido a i-mTOR -Análisis Multivariado. ....	127
Tabla 21 Características de los pacientes por terciles de coeficiente de variabilidad de niveles plasmáticos de i-mTOR.....	130
Tabla 22 Niveles plasmáticos de i-mTOR y Pérdida de Injerto censurando la muerte por terciles de coeficiente de variabilidad de niveles plasmáticos de i-mTOR .....	131
Tabla 23 Variables relacionadas con la pérdida del injerto renal censurando muerte ....	132

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Número de pacientes convertidos anualmente a imTOR .....	93
Figura 2 Evolución del eGFR (CKD-EPI) pre- y post-conversión, en la totalidad del grupo por <i>intención de tratar</i> , estratificado según causa de conversión a i-mTOR (p=0,033). ..	101
Figura 3 Evolución del eGFR (CKD-EPI) comparando pacientes que suspenden i-mTOR en los primeros 6 meses frente a los que no lo suspenden .....	102
Figura 4 Curva ROC del modelo predictivo de mejoría de la función renal .....	106
Figura 5. Porcentaje de pacientes en tratamiento con AEEs .....	107
Figura 6. Probabilidad acumulada de neumonitis.....	111
Figura 7. Curva Kaplan-Meier para supervivencia de injerto renal tras conversión a i-mTOR .....	112
Figura 8 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según CKD-EPI basal.....	115
Figura 9 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según proteinuria basal .....	116
Figura 10 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según colesterolemia basal .....	116
Figura 11 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según suspensión i-mTOR.	116
Figura 12 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según edad a la conversión .....	117
Figura 13. Supervivencia del injerto (muerte no censurada) .....	118
Figura 14 Curva Kaplan Meier para supervivencia del paciente tras conversión a i-mTOR .....	119
Figura 15. Curva Kaplan Meier para supervivencia de paciente estratificando por causa de conversión a i-mTOR.....	120

Figura 16. Curva Kaplan Meier para supervivencia de paciente estratificando por tipos de tumores que condicionaron la conversión a i-mTOR .....	121
Figura 17. Curva Kaplan-Meier para supervivencia de pacientes según etiología de ERC	125
Figura 18. Curva Kaplan-Meier para supervivencia de paciente según edad a la conversión a i-mTOR .....	125
Figura 19. Curva Kaplan-Meier para supervivencia de paciente según proteinuria 24h basal .....	125
Figura 20 Curva Kaplan Meier para supervivencia del paciente, excluyendo tumores de órgano sólido y tumores hematológicos .....	127
Figura 21 Curva ROC de variabilidad para pérdida de injerto censurando muerte .....	133
Figura 22 Curva de Supervivencia Kaplan Meier para pérdida de injerto censurando muerte .....	133

## **1 INTRODUCCIÓN**

Han pasado ya más de 60 años desde que Murray realizó en Boston, el 23 de diciembre de 1954, el primer trasplante renal exitoso entre gemelos homocigotos. Tras la euforia de los primeros trasplantes renales de donante vivo que se realizaron en los años 50, comenzó una época de intenso trabajo para encontrar opciones terapéuticas adecuadas que evitasen el rechazo del injerto sin aumentar el riesgo infeccioso y tumoral. En 1972 el doctor Borel en Basilea demostró las propiedades inmunosupresoras de la ciclosporina A y diez años después este fármaco comenzó a introducirse en los protocolos de los hospitales trasplantadores, experimentando la supervivencia del injerto una mejoría notable<sup>1</sup>.

La aparición posterior de los nuevos inmunosupresores permitió una reducción en las tasas de rechazo agudo muy significativas, desde el 80% en la época pre-ciclosporina, al 40% en la era de la ciclosporina y azatioprina, y al 10-12% tras la introducción del tacrólimus, el micofenolato mofetil y otros<sup>2</sup>. Gracias a esto, la supervivencia del trasplante en el primer año es superior al 90% en la mayoría de los registros<sup>3 4 5</sup>. Con ello, el trasplante se ha convertido en el modelo terapéutico de elección en la enfermedad renal crónica al ofrecer mejores expectativas en calidad de vida y supervivencia en diálisis<sup>6</sup>.

Sin embargo, esta mejoría en las tasas de rechazo agudo no ha comportado una mejoría en el largo plazo<sup>7</sup>. La disfunción crónica del injerto (sea secundaria a rechazo crónico, nefrotoxicidad, infecciones u otras patologías), las complicaciones tardías como enfermedad cardiovascular o neoplasias y los criterios cada vez menos restrictivos a la

hora de admitir donantes y receptores están relacionadas con ello. Las principales causas de pérdida del injerto a largo plazo, tras el primer año de trasplante, son la disfunción crónica del injerto (40-50% de pérdidas renales a largo plazo son debidas a disfunción crónica del injerto)<sup>6</sup> y la muerte del paciente con injerto funcionando en segundo lugar (30-40% de pérdidas de injerto a largo plazo se producen por el fallecimiento del paciente con trasplante funcionando)<sup>8</sup>. La mortalidad de los pacientes trasplantados se debe fundamentalmente a enfermedades cardiovasculares (30-40%) y a neoplasias malignas, seguidas de procesos infecciosos<sup>8 9</sup>. En el año 2000 Hariharan publica los resultados del registro americano de trasplantes y realiza una estimación de la vida media de los injertos a largo plazo basándose en los resultados a corto-medio plazo, mostrando así un incremento significativo de la supervivencia de los injertos realizados en la era post-ciclosporina<sup>4</sup>. Sin embargo, los trabajos de Meier-Kriesche en años posteriores y utilizando el mismo registro, muestran que la vida media renal de los injertos no mejora significativamente<sup>7 10</sup>. Básicamente, durante el primer año se asiste a un incremento en la supervivencia de los injertos renales, pero posteriormente el ritmo de pérdida de éstos mantiene la misma pendiente que hace dos décadas, por lo que podemos concluir que los factores que condicionan esta pérdida a largo plazo no se han modificado de forma significativa a lo largo de los años. Éste es uno de los temas más debatidos hoy en día en el mundo del trasplante renal, buscando distintos perfiles en el diseño de nuevos fármacos inmunosupresores<sup>11</sup> y nuevas estrategias en el manejo de los mismos; en este sentido, se han desarrollado “scores” que puedan identificar a aquellos pacientes con alto riesgo de mortalidad tras el primer año del trasplante renal, como el que se publicó en el año 2009 por el Grupo español de Disfunción Crónica del

Injerto<sup>12</sup>, o el publicado en el 2012 por Rodrigo y col.<sup>13</sup> para predecir el retraso en la función del injerto.

## **1.1 NEFROPATÍA CRÓNICA DEL INJERTO/DISFUNCIÓN CRÓNICA DEL INJERTO**

La disfunción crónica del injerto (DCI) continúa siendo un desafío a vencer en el campo del trasplante renal, ya que en la actualidad constituye la causa más frecuente de pérdida del injerto tras el primer año postrasplante<sup>6</sup>. Es la responsable de la pérdida de aproximadamente el 40-50% de los injertos renales y su incidencia está aumentando en los últimos tiempos debido en gran medida a la realización de biopsias de protocolo.

La DCI es una entidad clínico-patológica de origen multifactorial, caracterizada por un progresivo descenso del filtrado glomerular, en general asociado a proteinuria e hipertensión arterial, que ocurre a partir del tercer mes postrasplante<sup>14</sup>. Se trata de un diagnóstico de exclusión<sup>15</sup>, por lo que es importante realizar el diagnóstico diferencial con otras entidades como pueden ser el rechazo (agudo, crónico y/o subclínico), la nefrotoxicidad por inhibidores de la calcineurina (ICN), las glomerulonefritis recurrentes o de novo, la nefroangioesclerosis (en trasplantes procedentes de donantes añosos, receptores con hipertensión arterial, dislipemia o fumadores) y otras entidades como puedan ser la nefropatía por poliomavirus BK y la estenosis de arteria renal del injerto<sup>16</sup>.

---

### **1.1.1 Nomenclatura: recorrido histórico.**

Si realizamos un recorrido histórico sobre la nomenclatura utilizada para referirse a la pérdida de función renal más allá del tercer mes de trasplante, nos encontramos con los términos *rechazo crónico*, *nefropatía crónica del injerto*, *daño ó*

*lesión crónica del injerto y disfunción crónica del injerto*. Desde hace 10-15 años académicamente el concepto de *nefropatía crónica del injerto* ha cambiado en nomenclatura, en graduación histológica, y en los factores de riesgo que la favorecen, desarrollándose varias teorías patogénicas. Todo ello ha incidido de forma directa en la prevención y en el manejo de la permanentemente “*mal llamada nefropatía crónica del injerto*”.

Inicialmente, apareció el concepto de *rechazo crónico* en la década de los años 1950, con un caso reportado por Hume en el que se observó un “rechazo” de órgano trasplantado a los 5,5 meses del trasplante con obliteración arterial en la biopsia<sup>17</sup>. Años más tarde, Porter y Jeannet publicaron que la obliteración arterial por la fibrosis de la íntima se debía a un daño inmunológico probablemente mediado por aloanticuerpos, acuñando dicha lesión el nombre de *rechazo crónico*<sup>18 19</sup>. Estos hechos ocurrieron en los inicios de la era del trasplante, siendo hoy en día muy poco frecuentes gracias a la inmunosupresión de la que actualmente disponemos. Además, el término *rechazo crónico* implica la existencia de un daño inmunológico continuo que en muchos casos no se puede constatar de forma objetiva; en cambio, en la DCI la progresión clínica es lenta y en su etiopatogenia están presentes tanto factores inmunológicos como no inmunológicos. Aunque ciertamente el modelo Hume-Porter-Jeannet sienta los cimientos para entender la DCI<sup>14</sup>, el término *rechazo crónico* no debería utilizarse<sup>20</sup>.

En el año 1991, en la ciudad de Banff, se inició un proyecto internacional y multidisciplinar para la evaluación y cuantificación de los diferentes cambios histológicos relacionados con el rechazo agudo, posteriormente extendido a otros tipos de lesiones histológicas del injerto. Fue en este mismo año 1991 cuando el Dr LC Paul



acuñó por primera vez el término *nefropatía crónica del injerto* para referirse a los cambios histológicos de fibrosis intersticial, atrofia tubular, glomeruloesclerosis y arteriopatía<sup>21</sup>. El término *nefropatía crónica del injerto* fue aceptado en la conferencia de Banff de 1993, incluyendo al menos 4 entidades que podrían no identificarse claramente en la biopsia como son el rechazo crónico, la nefrotoxicidad crónica por ICN, la enfermedad vascular debida a hipertensión, y los datos secundarios a infección crónica y/o reflujo, para describir los cambios de fibrosis intersticial y de atrofia tubular observados en un injerto renal con daño establecido<sup>22</sup>. Finalmente, fue Halloran quien definió la NCI como un cuadro posterior a los 3 meses del trasplante, en el que se produce deterioro de función renal (una vez descartado el rechazo agudo, la nefrotoxicidad por fármacos, la recurrencia de enfermedad de base y/o glomerulonefritis de novo), con características histológicas típicas del cuadro como son la atrofia tubular (AT), la fibrosis intersticial (FI), el engrosamiento fibroso intimal y la glomerulopatía del trasplante<sup>23</sup>.

Fue en la VIII Reunión de Banff, celebrada en Edmonton en 2005, donde se produjo un cambio sustancial, recomendándose sustituir el término *nefropatía crónica del injerto* por *daño crónico del injerto (chronic allograft injury)*, un diagnóstico de exclusión, que se expresaba a nivel histológico por «*Fibrosis Intersticial y Atrofia Tubular Sin Causa Específica*» (IF/TA NOS, del inglés *Interstitial Fibrosis and Tubular Atrophy Not Otherwise Epecified*) y, aunque podían verse lesiones a nivel vascular y glomerular, la graduación se estableció basándose en las lesiones tubulares e intersticiales<sup>24</sup>. Una vez más, la razón de la recomendación fue el uso inadecuado del término *nefropatía crónica del injerto*, que se empleaba como genérico para referirse a todas las causas de

disfunción crónica del injerto asociadas a la presencia de fibrosis. Además, en esta reunión de Banff del 2005 se describió una nueva entidad, el *rechazo crónico mediado por anticuerpos* en base a la presencia de cambios sugestivos, sobre todo glomerulares y arteriales y positividad para C4d en la biopsia<sup>24</sup>. De esta manera, parte de los casos que antes eran clasificados como *nefropatía crónica del injerto*, ahora ya no serían clasificados como *IF/TA NOS* sino como *rechazo crónico mediado por anticuerpos*, con implicaciones pronósticas y manejo terapéutico diferente. Las guías KDIGO también se hicieron eco de esta reunión de Banff del 2005<sup>25</sup>, para recomendar evitar los términos *rechazo crónico o nefropatía crónica del injerto*, y utilizar en su lugar el término *daño crónico del injerto*.

Como hemos dicho al principio de este apartado, el daño crónico del injerto es un diagnóstico de exclusión y se caracteriza por un progresivo deterioro de la función renal, no debido a recurrencia de la enfermedad de base u otras causas. La expresión histológica predominante es la FI/AT, pero puede incluir otras lesiones inespecíficas. A pesar de las recomendaciones anteriores, el término *nefropatía crónica del injerto* continúa muy arraigado en la comunidad trasplantadora y su presencia se mantiene en la literatura científica de los últimos años<sup>26 27</sup>. De igual modo se mantiene el empleo coloquial del término *disfunción crónica del injerto*, término que utilizaré a partir de ahora, excepto al referirme a artículos que hablen expresamente de *nefropatía crónica del injerto*.

### 1.1.2 Factores de riesgo.

Los factores de riesgo implicados en el desarrollo de la disfunción crónica del injerto son de naturaleza inmunológica y no inmunológica (Tabla 1).

Episodios recurrentes de rechazo agudo pueden explicar la FI/AT en muchas ocasiones. Las citoquinas que se liberan durante el episodio de rechazo (IL-1, FGF, PDGF) permiten la proliferación de células musculares lisas y de fibroblastos en los vasos del

**Tabla 1 Risk Factors Implicated in Chronic Allograft Injury<sup>14</sup>**

Immunologic Risk Factors	Non-immunologic Risk Factors
1. Histocompatibility	1. Ischemia-reperfusion injury
2. Acute rejection episodes	2. Brain death
3. Suboptimal immunosuppression	3. Infection citomegalovirus and BK virus
4. Subclinical rejections	4. Calcineurin inhibitor toxicity
5. Antidonor antibodies	5. Donor factor: age, hypertension, smoking, diabetes, gender, reduced renal mass
6. Noncompliance	6. Recipient factors: race, hypertension, smoking, diabetes, hyperlipidemia

injerto renal, de forma que el engrosamiento miointimal se explica directamente por daño vascular inmunológico. La arterioesclerosis del injerto conduce finalmente a un daño glomerular isquémico<sup>28</sup>. Una vez se establece la glomeruloesclerosis, los glomérulos que permanecen sanos se hipertrofian, aumentando la presión del capilar glomerular y, por lo tanto, su filtración. Estos cambios hemodinámicos lesionan el endotelio capilar, produciéndose expansión mesangial y precipitando aún más la glomerulopatía crónica del injerto<sup>28</sup>.

La arterioesclerosis y la fibrosis intersticial del injerto también pueden deberse al daño que produce la hipertensión arterial, las pielonefritis recurrentes y la nefrotoxicidad crónica tanto de tacrolimus (TAC) como de ciclosporina (CsA). El peso que

estos procesos tienen finalmente en la pérdida del injerto es muy difícil de determinar con datos histológicos, por lo que el término *nefropatía crónica del injerto* no se asocia con ninguna etiología concreta<sup>29</sup>.

En el estudio US FK506<sup>30</sup> se incluyeron 144 pacientes a los que se realizó una biopsia de protocolo a los 2 años del trasplante. Setenta y nueve pacientes tomaban TAC y 65 pacientes tomaban CsA. Se observaron datos histológicos de *nefropatía crónica del injerto* en el 62% de pacientes con TAC y en el 72,3% de pacientes con CsA; la presencia de *nefropatía crónica del injerto* fue significativamente más elevada en receptores de un donante añoso, en aquéllos que sufrieron nefrotoxicidad por ICN, infección por CMV o un episodio de rechazo agudo en el primer año postrasplante. En el análisis multivariante de los datos se confirmó que la nefrotoxicidad por ICN y el rechazo agudo fueron los predictores más significativos de *nefropatía crónica del injerto*<sup>30</sup>.

La nefrotoxicidad por ICN es el factor no inmunológico más importante en la patogénesis de la DCI. Los ICN pueden producir tanto nefrotoxicidad aguda como crónica. La nefrotoxicidad crónica es un diagnóstico histológico caracterizado por fibrosis intersticial y atrofia tubular con hialinosis arteriolar nodular generalmente, fibrosis en bandas, microcalcificaciones tubulares y finalmente glomeruloesclerosis<sup>31</sup>. Hoy en día existe suficiente evidencia en la literatura que apoya el hecho de que ambos ICN, tanto CsA como TAC, tienen un gran efecto profibrótico y que su uso mantenido en el tiempo se asocia con grados similares de fibrosis, tanto en injertos de donante cadáver, y donante vivo<sup>32</sup>, como en riñones nativos de receptores de otros órganos sólidos<sup>33</sup>. Estos cambios estructurales del injerto pueden estar en una fase avanzada en el momento del diagnóstico, por lo que probablemente ya no sean reversibles y se

acompañen de un deterioro progresivo de la función renal<sup>34</sup>. Ya a finales de los años 80 se describió cómo casi la totalidad de los pacientes trasplantados cardíacos en tratamiento con CsA presentaban disfunción renal a los 36 meses del trasplante<sup>35</sup>. A los 5 años la mayor incidencia acumulada de enfermedad renal crónica (ERC) la presentan los receptores de trasplante intestinal (21,3%), seguidos de los receptores de trasplante hepático (18,1%), pulmonar (15,8%), cardíaco (10,9%) y trasplante combinado corazón-pulmón (6,9%)<sup>33</sup>. Esta alta prevalencia de ERC en los receptores de trasplantes de órganos sólidos se considera debida a la exposición acumulada a los fármacos ICN en el periodo postrasplante. Varios estudios han demostrado que la función renal mejora cuando se minimizan o se retiran los ICN, como veremos más adelante<sup>11</sup>. La máxima a tener siempre presente es que la conversión de una terapia inmunosupresora basada en ICN a un regimen inmunosupresor no nefrotóxico debe mantener siempre un efecto inmunosupresor adecuado.

---

### 1.1.3 Etiopatogenia.

El deterioro progresivo de la función renal y la pérdida sucesiva de injertos tras el trasplante renal es consecuencia del lento e insidioso desarrollo de fibrogénesis, cuya patogénesis es desconocida. La fibrogénesis está mediada por citoquinas y factores de crecimiento, se inicia y se mantiene por una transformación epitelio-mesenquimal (EMT)<sup>36</sup> que produce una acumulación de matriz extracelular, desarrollando finalmente fibrosis intersticial y la atrofia tubular<sup>37</sup>. Este desarrollo de acontecimientos fibróticos apoyan la hipótesis de que la *IF/TA NOS* es una lesión histológica acumulativa y progresiva relacionada con la dosis y la duración de la exposición a los ICN e influida por numerosos factores inmunológicos y no inmunológicos<sup>11 37 38</sup>.

En la literatura de los últimos años se recogen varias hipótesis etiopatogénicas que tratan de explicar la DCI<sup>14</sup>. En primer lugar, el *rechazo crónico mediado por anticuerpos (c-AMR)* es responsable de más de la mitad de las pérdidas tardías del injerto renal. El c-AMR es la causa más relevante de daño crónico del injerto y es favorecido por tratamientos inmunosupresores insuficientes o inestables, bien por mala adherencia terapéutica, bien por reducción de la carga inmunosupresora en el contexto de neoplasias y/o infecciones graves. El bajo nivel inmunosupresor al que puede estar sometido un paciente trasplantado de forma oscilante produce una inflamación a nivel intersticial y microvascular, asociado o no, a una glomerulopatía del trasplante con anticuerpos donantes-específicos circulantes (ADEs) y depósito de C4d en los capilares peritubulares. Aunque logremos realizar un trasplante con una compatibilidad completa en lo que se refiere a los antígenos del HLA, eso no significa, por desgracia, que un rechazo agudo o crónico se pueda poner en marcha por una respuesta inmunológica a antígenos no-HLA<sup>39</sup>. Esto es debido a que existen otros antígenos que también juegan un papel relevante en el trasplante, aunque bastante desconocido hasta el momento. Este es el caso de los antígenos de histocompatibilidad menor, los antígenos de las células endoteliales MICA y MICB<sup>40</sup>. Existen otros anticuerpos que también se han descrito involucrados en el c-AMR, como los anticuerpos frente al glutatión-S-transferasa T1<sup>41</sup>, y los anticuerpos frente al receptor de la angiotensina-II<sup>42</sup>. Hasta ahora se han utilizado tratamientos muy agresivos para el c-AMR que no han dado buenos resultados, por lo que actualmente se está poniendo más hincapié en la prevención del mismo. Este enfoque preventivo es la mejor opción para reducir la incidencia de c-AMR, y mejorar la supervivencia a largo plazo.

Otra de las hipótesis propuestas para explicar la patogenia de la DCI se basa en el hecho de que la fibrogénesis, mediada por citoquinas y factores de crecimiento, se inicia y se mantiene por una *transformación epitelio-mesenquimal (EMT)*<sup>36</sup>. Cuando las células del epitelio tubular renal se ven sometidas a hipoxia y a exceso de liberación de TGF- $\beta$ 1 ó de IL-1, comienza una cascada de procesos predeterminados genéticamente como son pérdida de adhesión celular, pérdida de e-cadherina, expresión de  $\alpha$ -SMA de novo, una reorganización de las fibras de actina, disrupción de la membrana basal tubular, migración celular e invasión de miofibroblastos con producción de colágeno tipo I y tipo III, y fibronectina<sup>43</sup>. La EMT se ha demostrado en trasplantes renales perdidos a largo plazo, cuya biopsia preimplante demostró a nivel molecular una pérdida de marcadores de células epiteliales (e-cadherina, citoqueratina), una sobreexpresión de marcadores mesenquimales (vimentina,  $\alpha$ -SMA) y de marcadores de síntesis de colágeno<sup>44</sup>.

Otras teorías patogénicas sobre la DCI se enfocan dentro del stress oxidativo, del aumento en la producción de citoquinas y en el contexto de la senescencia celular. El *stress oxidativo* en el trasplante renal se induce por la lesión de isquemia-reperfusión, por los fármacos inmunosupresores y por las comorbilidades que puedan existir en el receptor<sup>44</sup>. Los productos derivados del stress oxidativo van a condicionar lesión celular, apoptosis, EMT y expresión de un fenotipo pro-senescente. Albrecht y col.<sup>45</sup> y posteriormente Djamali y col.<sup>46</sup> objetivaron que la expresión de una sintetasa de óxido nítrico inducible en el intersticio renal, y el aumento de productos derivados del stress oxidativo, estaban claramente aumentados en injertos con daño crónico<sup>45 46</sup>. La teoría del *exceso de citoquinas* postula que la DCI se debe a un daño tisular agudo y repetido

causado por el aumento de la producción de citoquinas, que lleva indefectiblemente a la fibrosis intersticial y vascular mediada por el TGF- $\beta$ 1, además de por otros mediadores como pueden ser el VEGF<sup>14 47</sup>.

Por último, existen factores patogénicos “de riesgo” en la población como son ciertos *polimorfismos de la enzima convertidora de angiotensina*. Varios grupos han demostrado como los receptores portadores del genotipo DD de la enzima convertidora de angiotensina desarrollan DCI con más frecuencia que aquéllos trasplantados renales que no expresan dicho polimorfismo<sup>48</sup>. Es por esto, que la presencia del genotipo DD podría considerarse una indicación para utilizar tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina para prevenir la DCI<sup>47 49</sup>.

## 1.2 MUERTE CON INJERTO FUNCIONANTE

La muerte del paciente con injerto funcionante es la segunda causa de pérdidas de injertos renales (tras la DCI), y supone entre el 30-40% de las pérdidas de injertos a largo plazo<sup>8</sup>. Las causas de muerte más frecuentes son las de origen cardiovascular y las neoplasias malignas<sup>1 9 50 51 52</sup>.

Con respecto al *riesgo cardiovascular* se conoce que los factores clásicos de riesgo conocidos en la población general juegan un papel decisivo<sup>1</sup>. A pesar de que la mayoría de estos factores de riesgo están aumentados en la población trasplantada<sup>53 54</sup> no justifican en su totalidad el riesgo; tanto es así, que los escores habituales de riesgo cardiovascular de la población general subestiman el riesgo en los trasplantados, debido a factores de riesgo específicos de esta población, como son la insuficiencia renal, la proteinuria y los efectos de los fármacos inmunosupresores<sup>55 56</sup>. Los fármacos



inmunosupresores inducen riesgo cardiovascular, siendo los esteroides los que tienen un papel más perjudicial, seguidos de los ICN (CsA y TAC) por su efecto nefrotóxico, diabetogénico e hipertensivo entre otras cosas<sup>55 56</sup>.

Las *neoplasias malignas* son también causa importante de muerte con injerto funcional<sup>50 51 52</sup>. Los pacientes trasplantados renales tienen mayor riesgo de cáncer que la población general<sup>57 58</sup>. El mecanismo por el que se produce este aumento del riesgo no está completamente dilucidado pero se sabe que el principal factor que interviene es la infección oportunista por virus oncogénicos y la pérdida de la vigilancia inmune<sup>52</sup>. El tipo de fármaco inmunosupresor que se utilice, la dosis y el tiempo de exposición, influyen directamente en la incidencia y el tipo de neoplasia que se desarrolla; es decir, no sólo es un problema de inmunosupresión de forma inespecífica, sino también de efectos directos de cada inmunosupresión<sup>59</sup>. Además, la progresión tumoral es más rápida, el pronóstico peor y hay mayor refractariedad al tratamiento convencional que en población no trasplantada<sup>60 61</sup>.

Aunque la enfermedad cardiovascular sigue siendo la principal causa de muerte con injerto funcional en los pacientes trasplantados renales<sup>8 9</sup>, se postula que en cuestión de 20 años el cáncer se convertirá en la causa de muerte más frecuente<sup>60 62</sup>. Es de vital importancia poner en marcha de forma exhaustiva medidas de prevención, diagnóstico y tratamiento del mismo en pacientes trasplantados renales. Los fármacos inmunosupresores objetivo de esta tesis, los inhibidores de mTOR (rapamicina y everolimus), no sólo participan en el bloqueo de la respuesta inmune a nivel del linfocito, sino que también son potentes inhibidores de la proliferación celular de forma generalizada en los diversos tejidos, lo que les otorga un poder antiproliferativo y

antineoplásico, además de inmunosupresor. En este sentido, estos inmunosupresores han cobrado especial interés por mejorar el perfil cardiovascular y por tener un efecto anti-tumoral<sup>63 64 65 66</sup>.

### **1.3 DESCUBRIMIENTO DE LOS FÁRMACOS INHIBIDORES DE MTOR: MECANISMO DE ACCIÓN Y PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS.**

Sirolimus ó Rapamicina es un antibiótico macrólido que fue descubierto en 1965 por un grupo de investigadores canadienses, producido por la fermentación natural de un hongo actinomiceto (*Streptomyces hygroscopicus*) que hallaron en una muestra de suelo de la isla de Pascua, también conocida como "Rapa Nui". Se presentó por primera vez en el año 1975 como fármaco antifúngico<sup>67 68</sup>, demostrando posteriormente su actividad inmunosupresora *in vitro*<sup>69</sup>. Entre 1982 y 1988, rapamicina se desarrolló como fármaco inmunosupresor. Este fármaco posee una estructura molecular muy parecida al TAC pero un mecanismo de acción completamente diferente, siendo el representante de un nuevo grupo terapéutico definido por su mecanismo de acción: la inhibición de la vía metabólica intracelular denominada mTOR (*mammalian target of rapamycin*). *Sirolimus* (SRL) fue aprobado por la Agencia de Alimentos y Medicamentos de EE.UU (FDA) en el año 1999 para el tratamiento preventivo del rechazo agudo en combinación con CsA y esteroides, y en el año 2001 por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) como alternativa a ICN en la terapia a largo plazo para evitar el rechazo en el trasplante. Años más tarde se desarrolló un segundo fármaco del grupo terapéutico inhibidores de mTOR, *Everolimus* (EVE), con un mecanismo de acción idéntico a SRL y con algunas diferencias desde el punto de vista farmacocinético<sup>70</sup>. Más recientemente, apareció

*Temsirolimus* (CCI-779), el último representante del grupo i-mTOR, derivado de SRL también y con semejante mecanismo de acción; éste último fue aprobado por la Agencia de Alimentos y Medicamentos de EE.UU (FDA) en mayo de 2007 y por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) en noviembre del 2007, para el tratamiento del carcinoma renal.

Tanto los inhibidores de mTOR (i-mTOR) como el TAC se unen a la inmunofilina intracelular FKBP12, pero poseen un mecanismo de acción diferente: i-mTOR no inhiben la calcineurina. El conjugado de SRL y FKBP12 se une a mTOR, inhibiendo las vías de transducción de señales inducidas por citoquinas, con inhibición de la síntesis de ADN y proteínas, deteniendo el ciclo celular y suprimiendo la proliferación de células T impulsada por IL-2 e IL-4<sup>2</sup>. mTOR es una proteína nuclear encargada de regular el ciclo celular. Los fármacos i-mTOR interfieren en fases tardías de la estimulación linfocitaria, impidiendo el paso de la fase celular G<sub>1</sub> a la fase S. De esta forma bloquean la proliferación de linfocitos T y la síntesis de anticuerpos<sup>71</sup>, así como la proliferación de células no hematopoyéticas como son las del músculo liso vascular<sup>72</sup>.

La proteína mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*) es una serina/treonina quinasa de 289 kDa que tiene funciones pleiotrópicas y participa en la regulación del inicio de transcripción del ARNm y en la traducción a proteínas en respuesta a concentraciones intracelulares de aminoácidos y otros nutrientes esenciales. Interviene en la organización del citoesqueleto de actina, en el tráfico de membrana, en la degradación de proteínas, en la señalización de la proteína quinasa C (PKC) y en la biogénesis del ribosoma. mTOR regula rutas de señalización esenciales y está implicada en el acoplamiento del estímulo de crecimiento y la progresión del ciclo celular<sup>73</sup>. La

transducción de señales en los diferentes tipos de células frecuentemente implica la activación, condicional o constitutiva, de receptores tirosina-quinasa, los cuales disparan múltiples quinasas citoplasmáticas. Tales rutas de señalización pueden operar independientemente, de forma paralela y/o a través de interconexiones que promueven el desarrollo de diferentes patologías. Entre las rutas de señalización más importantes están la ruta de fosfatidil inositol 3 quinasa (*PI3K*), la de proteína quinasa C (*PKC*) y la de proteína quinasa activada por mitógeno (*MAPK/Ras*)<sup>73</sup>. Existen dos complejos que contienen mTOR: el complejo sensible a rapamicina (*mTORC1*), que se define por su interacción con la proteína raptor (*regulatory-associated protein of mTOR*), y el complejo insensible a rapamicina (*mTORC2*), que se define por su interacción con rictor (*rapamycin-insensitive companion of mTOR*). La ruta raptor-mTOR (*mTORC1*) regula el crecimiento y la proliferación; responde a nutrientes y a factores de crecimiento, en parte debidos a reguladores como TSC1/TSC2 (complejo esclerosis tuberosa 1-hamartina complejo esclerosis tuberosa 2-tuberina) y Rheb (familia Ras de GTPasa). La fosforilación de mTOR (*mTORC1*) por AKT (también llamada proteína quinasa B: PKB) ocurre a través de la inactivación del complejo de esclerosis tuberosa (TSC) y directamente por Rheb. El complejo rictor-mTOR (*mTORC2*) regula AKT/PKB, PKC $\alpha$ , Rho/rac, para controlar la polaridad celular y el citoesqueleto. Los factores de crecimiento y los aminoácidos activan AKT y mTOR a través de PI3K<sup>73</sup>. La proteína mTOR es una quinasa clave que actúa por debajo de PI3K. Muchas evidencias apoyan la hipótesis de que mTOR es la llave del catabolismo y anabolismo celular que determina si las células, (en particular las células cancerígenas) deben crecer y proliferar. Además, mTOR tiene efectos en la regulación de la apoptosis<sup>74</sup>.

Los fármacos i-mTOR son fármacos muy lipofílicos por lo que presentan una biodisponibilidad reducida. Además, sufren un primer paso intestinal y hepático importante. Se unen mayoritariamente a células sanguíneas, de manera que sólo un 8% circula en plasma unido a lipoproteínas o como fármaco libre. La eliminación depende del citocromo P450, fundamentalmente de las isoenzimas CYP3A4/5 y CYP2C8 de las que son sustrato<sup>70</sup>, pudiendo verse implicados en diferentes interacciones con fármacos inhibidores o inductores de esta isoenzima, al igual que los ICN y con las mismas repercusiones clínicas. La CsA inhibe el metabolismo de SRL y EVE y da lugar a un incremento de las concentraciones de los i- mTOR<sup>75</sup>. La larga semivida de eliminación del SRL permite una única administración diaria, incluso se ha postulado la necesidad de administrar una dosis de choque.

Los fármacos i-mTOR se consideran fármacos de estrecho margen terapéutico por lo que es precisa su monitorización para ajustar la dosis<sup>70</sup>. Dicha monitorización de los niveles plasmáticos del fármaco se realiza mediante la determinación de la concentración pre-dosis en sangre total. Estudios farmacocinéticos indican que SRL se concentra principalmente en los eritrocitos, siendo la sangre la muestra adecuada para su determinación. Mantener los niveles de SRL entre 5-15 ng/mL optimiza la eficacia de la droga, minimizando los efectos secundarios y reduciendo los rechazos. Monitorizar las concentraciones en la zona valle de SRL es un buen índice de la exposición total de la droga durante el intervalo de dosis por dos razones: una buena correlación entre la concentración valle y el área bajo la curva (AUC) y una alta correlación entre toxicidad y concentraciones valle mayores a 15 ng/mL<sup>76</sup>. En cuanto a EVE, es necesario mantener las concentraciones pre-dosis por encima de 3 ng/mL, puesto que se asocian con una

menor incidencia de episodios de rechazo agudo<sup>77 78</sup>. Como límite superior para EVE se ha propuesto 8 ng/mL, aunque no se han investigado cifras superiores<sup>79</sup>.

Al ser fármacos de estrecho margen terapéutico, la variabilidad en los niveles plasmáticos puede ser importante y ésta se puede estimar calculando el coeficiente de variación (CV) de la manera siguiente:  $CV(\%) = SD/\mu \times 100$ , donde SD es la desviación estándar y  $\mu$  es la media de los niveles plasmáticos del fármaco<sup>80</sup>. El principal factor que influye en la variabilidad observada en los niveles plasmáticos de los fármacos inmunosupresores es la mala adherencia terapéutica<sup>80</sup>. En este sentido, se han publicado numerosos estudios sobre la variabilidad de los ICN, como el de Shemesh y Fine donde proponen que la mejor forma de evaluar la adherencia terapéutica en los pacientes trasplantados es calcular la variabilidad de los niveles plasmáticos de los ICN<sup>81</sup>. No hemos de olvidar que la pérdida del injerto censurada por muerte se debe en gran medida a mecanismos inmunológicos, principalmente al rechazo mediado por anticuerpos<sup>82</sup>. La falta de adherencia al tratamiento inmunosupresor, sea cual fuere éste, está presente en casi la mitad de los pacientes trasplantados renales que sufren un rechazo<sup>82</sup>, siendo además, el principal factor de riesgo para el desarrollo de anticuerpos anti-HLA donantes específicos (ADEs)<sup>83</sup>. En cuanto a la relación existente entre la variabilidad de los fármacos inmunosupresores y la evolución del injerto renal hay numerosos estudios realizados con TAC<sup>80 81</sup> y muy pocos con el resto de inmunosupresores. Rodrigo y col.<sup>84</sup> demostraron como la variabilidad en los niveles de TAC es un factor de riesgo muy potente para el desarrollo de ADEs y de pérdida de injerto censurada por muerte. En cambio, aunque está bien establecido en la comunidad científica trasplantadora que la reducción o la suspensión del micofenolato mofetilo

incrementa el riesgo de rechazo agudo y de pérdida del injerto<sup>85 86</sup>, Borra y Hsiau no han encontrado relación entre la variabilidad en los niveles de micofenolato mofetilo y la supervivencia del injerto renal<sup>87 88</sup>. Por otra parte, un estudio reciente llevado a cabo en 23 pacientes trasplantados renales pediátricos objetiva una asociación entre un CV elevado de SRL y rechazo diagnosticado por biopsia<sup>89</sup>. La relación entre la variabilidad en los niveles de i-mTOR y rechazo agudo está por confirmar en pacientes trasplantados renales adultos, habiendo sido publicada recientemente por nuestro grupo la relación entre la alta variabilidad de i-mTOR y la menor supervivencia del injerto en pacientes trasplantados renales adultos convertidos a i-mTOR<sup>90</sup>.

## **1.4 TOXICIDAD DE LOS I-MTOR**

La vía mTOR está involucrada en numerosos procesos fisiológicos relevantes, como la síntesis de proteínas, nucleótidos y lípidos. En esta vía mTOR existen dos complejos funcional y estructuralmente distintos (mTORC1 y mTORC2) cuyas funciones y mecanismos de activación no están claramente establecidos<sup>73</sup>. La activación de mTORC1 está mediada por diversas señales celulares, con actividad de mTOR quinasa en la que influyen nutrientes (aminoácidos, glucosa y oxígeno), niveles de energía celular (ATP) y muchos factores de crecimiento, citocinas y hormonas, incluida la insulina<sup>73</sup>. La inhibición tanto de mTORC1 como de mTORC2, sea por SRL o por EVE, conducirá a algunos de los efectos secundarios clínicamente demostrados de i-mTOR<sup>74</sup>. Éstos abarcan desde efectos leves y más agudos, como son linfocitos, cicatrización retrasada de las heridas, citopenias y efectos secundarios cutáneos y gastrointestinales, hasta otros más graves que pueden aumentar la morbilidad, como pueden ser proteinuria, mal control metabólico y neumonitis intersticial<sup>91</sup>. La mayoría de los

estudios sean de cohortes o ensayos clínicos aleatorizados han demostrado que el 20-25% de los pacientes precisan suspender el tratamiento debido a diferentes tipos de efectos secundarios<sup>92 93 94 95</sup>.

La mayoría de los efectos secundarios de i-mTOR dependen de la dosis y se pueden controlar fácilmente ajustando la prescripción, por lo que la individualización de la prescripción y la estrecha monitorización de los efectos colaterales es fundamental para lograr los efectos beneficiosos a largo plazo con estos inmunosupresores<sup>91</sup>. El perfil de seguridad depende en gran medida del tiempo de la introducción del i-mTOR, las comorbilidades del paciente y la terapia concomitante con otros inmunosupresores. En el trasplante de riñón y corazón, se pueden usar con seguridad como dosis bajas de novo o en conversión temprana. En el trasplante hepático la conversión a i-mTOR debe hacerse a las 4 semanas del trasplante para evitar la trombosis de la arteria hepática/vena porta<sup>91</sup>. La conversión tardía a i-mTOR sólo debiera realizarse cuando esté clínicamente indicado, como en el cáncer de piel no melanoma, en las infecciones refractarias por CMV o BKV, o en la PTLD relacionado con el VEB, siempre que el filtrado glomerular sea superior a 40-50 mL/min y la proteinuria inferior a 1 gramo/día<sup>91</sup>.

Inicialmente, la “alarma” sobre el perfil de seguridad de los i-mTOR se planteó en el contexto de los primeros estudios, en los que se utilizaron niveles plasmáticos valle elevados. Los efectos colaterales de la dosis, como curación retardada de la herida, linfocitos, anemia, leucopenia y peor perfil metabólico pusieron en entredicho los potenciales beneficios del aumento del filtrado glomerular a largo plazo, la disminución de la incidencia de infecciones virales y la reducción del riesgo de cáncer. Los resultados del estudio *Symphony* mostraron que el uso de i-mTOR como alternativa a ICN en terapia



de novo para el trasplante renal no era un enfoque adecuado<sup>96</sup>. En este estudio, los pacientes tratados con dosis bajas de SRL presentaron una mayor incidencia de rechazo agudo provado por biopsia (BPAR) asociada con una disminución de la supervivencia del injerto, en comparación con los pacientes tratados con TAC a dosis bajas<sup>96</sup>.

---

#### 1.4.1 Efectos secundarios leves de los i-mTOR.

Las complicaciones de **cicatrización de heridas** y la formación de **linfocelos** asociados a la terapia con i-mTOR son quizás uno de los efectos secundarios de clase más distinguibles de estos fármacos, es decir, independientes de los niveles de concentración plasmática. En general, el retraso en la cicatrización de las heridas y los linfocelos son un freno para la introducción de un i-mTOR de novo en el trasplante de órganos. Sin embargo, cuando se introducen, rara vez son causa de suspensión del fármaco ni de complicaciones graves<sup>97 98 99</sup>. Por lo tanto, el tratamiento con i-mTOR es factible cuando se lleva a cabo una vigilancia estrecha de la herida quirúrgica y cuando se realizan ecografías de control para el despistaje de linfocelos<sup>91</sup>. La incidencia en los primeros ensayos prospectivos de fase II y fase III fue de 6-11,9%<sup>100 101</sup>, la cual aumentó rápidamente hasta el 52% en estudios retrospectivos<sup>102</sup>. Las complicaciones de cicatrización de heridas se encontraron en los ensayos realizados con EVE y SRL, con incidencias que variaron del 10,9 al 28,2%<sup>103 104 105 106 107 108 109 110</sup>. La obesidad y la diabetes son factores de riesgo bien establecidos que favorecen el retraso en la cicatrización de las heridas, así como también lo son el retraso en la función del injerto (DGF) y BPAR<sup>102 111 112</sup>, factores todos ellos de confusión en estos estudios con utilización de i-mTOR *de novo*. Los protocolos de conversión obvian los problemas en el inmediato postrasplante de la cicatrización de las heridas. El mecanismo por el cual los i-mTOR

dificultan la cicatrización de las heridas se basa fundamentalmente en la inhibición de la angiogénesis dependiente del VEGF a través del bloqueo de las vías mTOR<sup>113 114</sup>, y en la disminución que SRL produce en la actividad de los fibroblastos<sup>115</sup>.

El **edema** se caracteriza por la acumulación de líquido en el espacio extracelular y es uno de los efectos secundarios más frecuentes asociados con el tratamiento con i-mTOR, con una prevalencia estimada que oscila entre el 8 y el 62%<sup>116</sup>. La incidencia puede ser menor con EVE en comparación con SRL<sup>117</sup>. En los receptores de trasplante de órgano sólido el edema puede ser secundario a mayor presión hidrostática, disminución de la presión oncótica o aumento de la permeabilidad capilar. El tratamiento con i-mTOR reduce la expresión de VEGF, pero también aumenta la liberación de prostaciclina<sup>118</sup> y reduce la expresión de VE-cadherina<sup>119</sup>; esto último aumenta la permeabilidad capilar y es probablemente el mecanismo más importante para la aparición de edema en estos pacientes. La secreción de prostaciclina por las células endoteliales causa vasodilatación. Por lo tanto, se debe evitar la administración concomitante de antagonistas del calcio dihidropiridínicos en estos pacientes, ya que se produce una sinergia entre ambos fármacos aumentando el riesgo de edemas periféricos, con mayor frecuencia en los miembros inferiores. Por otro lado, la expresión disminuida de VEGF interfiere con la linfangiogénesis<sup>120</sup>, lo que produce linfedema localizado, que puede ser unilateral o bilateral, y más pronunciado en los pacientes sometidos a cirugías previas. Es importante recordar que el edema asociado a i-mTOR depende de la dosis. Por lo tanto, una monitorización estrecha y la reducción de los niveles valle pueden controlar eficazmente los síntomas, además de evitar medicación concomitante que pueda potenciar estos efectos y la prescripción de una dieta baja en

sal. Los diuréticos proporcionan un beneficio marginal, ya que el edema es secundario a la acumulación de líquido extravascular en pacientes normovolémicos con presión oncótica normal<sup>91</sup>.

El **angioedema** es otro efecto secundario importante y potencialmente grave de i-mTOR, con una incidencia que varía entre 2,2-15%<sup>121</sup>, y que también puede verse potenciado con fármacos que inducen angioedema, como IECAs, ARA-II y AINEs<sup>91</sup>.

Otros efectos secundarios de los fármacos i-mTOR frecuentes y dependientes de dosis, son la **estomatitis y las ulceraciones orales**, que no suelen ser graves y rara vez conducen a la interrupción del tratamiento. La incidencia varía entre 3-19% con SRL o EVE en los estudios de trasplante renal<sup>101 107 122 123 124</sup>, y hasta el 60% con temsirolimus<sup>125</sup>. El control cuidadoso de las lesiones, una buena higiene bucal, un tratamiento tópico con clobetasol 0,05% o dexametasona 0,1%, y el ajuste de los niveles valle de i-mTOR deberían ser suficientes para controlar los síntomas y prevenir complicaciones adicionales<sup>126</sup>.

SRL también se ha asociado con **dermatitis y foliculitis similares al acné**. La incidencia en receptores de trasplante de órganos sólidos varía entre 13-46% en diferentes estudios, con un fuerte predominio masculino<sup>127</sup>, siendo probable que esta incidencia esté subestimada por informar únicamente las formas graves de acné<sup>101</sup>. Si bien estos efectos secundarios no son potencialmente graves, los problemas dermatológicos provocaron el cese de SRL en el 12% de los pacientes<sup>127</sup>.

Por último, uno de los efectos adversos considerado en la mayoría de las ocasiones como leve es la **anemia**. El uso de i-mTOR ha sido identificado como un factor

de riesgo para el desarrollo de anemia en pacientes con trasplante renal<sup>108 128</sup>. Schena y col<sup>92</sup> y Ekberg y col<sup>106</sup> demostraron que el tratamiento con SRL-dosis alta y SRL-dosis baja, respectivamente, se asociaba con una mayor incidencia de anemia. En un metaanálisis reciente realizado por Su y col<sup>129</sup> se analizaron varios ensayos clínicos randomizados que comparaban regímenes de EVE con minimización de ICN (n=2) o retirada de ICN (n=3), obteniendo mayor riesgo de anemia [HR1,37 (IC 95% 1,60-1,62; p<0,001)] y mayor incidencia de BPAR en los protocolos de retirada de ICN. Por lo tanto, se aconseja una estrecha vigilancia de los niveles de hemoglobina en los pacientes trasplantados en tratamiento con i-mTOR, y no se debería considerar la anemia como un motivo de retirada de i-mTOR si con AEE es manejable<sup>91 126</sup>.

---

#### 1.4.2 Efectos secundarios potencialmente graves de los i-mTOR.

La **hiperlipidemia** es quizás uno de los efectos secundarios más frecuentes de la terapia con i-mTOR que depende en gran parte de los niveles de i-mTOR alcanzados<sup>103 104</sup>. En los primeros ensayos de fase II/III el 50% de los pacientes tratados con SRL presentaron hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia<sup>122</sup>. Tanto el complejo mTORC1 como el mTORC2 se han implicado en la homeostasis lipídica en modelos in vitro y in vivo<sup>130</sup>, traducándose esto en la aparición de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia dependiente de la dosis<sup>103 122</sup>, cuya incidencia oscila entre 5-74% en diferentes ensayos clínicos<sup>92 103 105 122</sup>. El tratamiento con estatinas y fibratos a menudo es suficiente para el control de la dislipemia aunque conlleva un mayor riesgo de rabdomiolisis<sup>131</sup>.

En cuanto a la **diabetes de nueva aparición tras el trasplante (NODAT)**, SRL se ha asociado a un mayor riesgo de la misma tanto en asociación con ICN<sup>105 132 133</sup>, como

en protocolos libres de ICN<sup>133</sup>. El mecanismo diabético de i-mTOR no es bien conocido pero se han propuesto tres mecanismos etiopatogénicos: 1) efecto de SRL sobre el hígado impidiendo la gluconeogénesis y potenciando la resistencia a la insulina<sup>131</sup>, 2) efecto de SRL sobre la célula beta pancreática reduciendo su proliferación y la secreción de insulina<sup>134</sup>, y 3) incremento en la resistencia periférica a la insulina secundaria al depósito ectópico de triglicéridos<sup>135</sup>. De cualquier modo, existen datos contradictorios entre los diferentes estudios publicados<sup>91</sup>. En el estudio ORION<sup>105</sup> se objetivó que los pacientes que recibieron TAC (con o sin SRL) presentaron una mayor incidencia de NODAT que aquéllos que recibieron SRL con micofenolato. En el estudio CONVERT<sup>92</sup> el grupo convertido a SRL presentó una mayor incidencia de hiperglucemia postrandomización (11,3 vs 6,6%;  $p=0,034$ ). Recientemente, Murakami y col.<sup>136</sup> publicaron un meta-análisis en el que analizaron el riesgo de NODAT en 2083 pacientes (i-mTOR 1179 y controles 904) de 7 ensayos clínicos randomizados (5 con SRL y 2 con EVE). La incidencia de NODAT fue de 5,5% en los pacientes que estaban con i-mTOR frente al 5,05% en los controles con ICN<sup>136</sup>. El riesgo de NODAT es mayor con TAC que con CsA, y además depende de los niveles plasmáticos<sup>103 104</sup>. Otra explicación al porqué de la alta incidencia de NODAT con i-mTOR puede ser que estos pacientes, al presentar más BPAR<sup>92 106 122</sup>, son tratados a menudo con bolos de esteroides e incremento de la dosis de esteroides de mantenimiento, lo cual puede contribuir al peor control glucémico. Por lo tanto, aunque parece que el mecanismo de acción de los i-mTOR podría incrementar el desarrollo NODAT, no es posible sacar una conclusión clara de los ensayos clínicos randomizados y de los metaanálisis publicados hasta el momento<sup>91</sup>. Lo que sí parece claramente establecido es que el riesgo de desarrollar NODAT es dosis

dependiente, con lo que si pudiéramos minimizar ambos niveles de i-mTOR y ICN podríamos disminuir el desarrollo de NODAT<sup>91</sup>.

La **proteinuria** es un fenómeno bien conocido en el trasplante renal y se considera un factor pronóstico de supervivencia del injerto y del paciente<sup>137</sup>. Los i-mTOR se han asociado con una mayor incidencia de proteinuria que los ICN en cualquier trasplante de órgano sólido<sup>123 138 139 140</sup>. El mecanismo exacto a partir del cual i-mTOR afecta la permeabilidad glomerular no está bien caracterizado. Varios autores sugirieron que el VEGF pudiera estar implicado. Cultivos de podocitos humanos expuestos a concentraciones de rango terapéutico de SRL no vieron afectada su viabilidad celular, pero sí sufrieron cambios en el fenotipo celular y en la reorganización del citoesqueleto<sup>141</sup>. Además, Letavernier y col.<sup>141</sup> observaron que SRL disminuía la síntesis de VEGF y la fosforilación de Akt, y que estos cambios a nivel del VEGF podocitario podrían contribuir a la proteinuria<sup>138</sup>. Oroszlan y col.<sup>142</sup> descubrieron que i-mTOR producía una disminución en la captación de albúmina y una disminución en la expresión de cubilina y megalina en las células epiteliales tubulares proximales, y que estos efectos podrían ser significativamente revertidos por IECA o ARA-II, lo que sugiere que i-mTOR induce una disfunción a nivel de las células del epitelio tubular proximal y reduce la captación de albúmina mediada por el receptor a través de un mecanismo dependiente de AT-II. Por otra parte, Saurina y col.<sup>143</sup> mostraron que parte del aumento de proteinuria en los estudios de conversión tardía podría explicarse por cambios hemodinámicos secundarios a la suspensión de ICN. Los ICN ejercen efectos antiproteinúricos aumentando la resistencia de la arteriola aferente y, por lo tanto, reduciendo la presión intraglomerular<sup>143</sup>. El aumento de la proteinuria que ocurre en

otros trasplantes de órganos sólidos también sugiere un efecto directo sobre la estructura de la proteína del diafragma de hendidura de podocitos que contribuya al aumento de la permeabilidad de las proteínas y la consiguiente proteinuria<sup>144</sup>.

En los trasplantes renales, tanto la conversión temprana como la tardía se asociaron con una mayor incidencia de proteinuria<sup>92 145 146 147</sup>. La proteinuria en el momento de la conversión es quizás el mejor predictor del resultado. En el ensayo CONVERT<sup>92</sup>, los receptores de trasplante renal con FG>40 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> y cociente de proteína/creatinina en orina <0,1 g/g presentaron mejores resultados a los 24 meses que el resto. Diekmann y col.<sup>146</sup> establecieron que la mejoría del filtrado glomerular era mayor en pacientes con proteinuria basal <800 mg/día en el momento de la conversión a i-mTOR<sup>146</sup>. De la misma forma, Sánchez-Fructuoso y Ruiz<sup>148</sup> establecieron como factor de riesgo de pérdida de injerto la proteinuria ≥500 mg/día en aquellas conversiones más allá del tercer año post-trasplante.

Los estudios de conversión en otros trasplantes de órganos sólidos corroboran estos hallazgos. Wadei y col.<sup>147</sup> informan un aumento de la proteinuria de 72 a 382 mg/día en los receptores de trasplante de hígado convertidos a SRL 158 días después del trasplante. Al igual que en el trasplante renal, una peor función renal y una mayor proteinuria en el momento de la conversión se asociaron con una mayor incidencia de proteinuria >1 g/día tras la conversión; siendo además esta proteinuria un factor de riesgo independiente para el deterioro de la función renal. Por último, la suspensión de SRL por empeoramiento de la función renal o por proteinuria condujo a la mejoría de estos parámetros en el 72% de estos pacientes<sup>147</sup>. Por lo tanto, la conversión de ICN a i-

mTOR debe ir seguida de una estrecha vigilancia de la función renal y de la proteinuria, ya que la suspensión del i-mTOR reduce la proteinuria a niveles casi preconversión<sup>91 126</sup>.

Los fármacos i-mTOR al igual que los ICN también pueden ser causa de **microangiopatía trombótica (MAT)**<sup>149</sup>. La MAT inducida por fármacos es un diagnóstico de exclusión al que se debe llegar una vez descartadas alteraciones inmunológicas y genéticas. En una revisión reciente sobre la MAT relacionada con los medicamentos, Al-Nouri y col.<sup>150</sup> concluyen que menos del 30% de los fármacos recogidos presentaron pruebas concluyentes sobre una relación causal. La combinación de ICN con i-mTOR puede aumentar el riesgo de MAT<sup>151</sup>. En algunas ocasiones, la MAT asociada a ICN se ha logrado controlar con éxito convirtiendo a i-mTOR<sup>152</sup>.

Por último, la **neumonitis intersticial no infecciosa (NIP)** también ha sido notificada como un efecto adverso considerado grave de i-mTOR<sup>153</sup>. La aparición de estas neumonitis tiene lugar típicamente dentro de los 2-6 meses tras el inicio de i-mTOR<sup>154</sup>. La edad avanzada y la polimedicación del paciente plutipatológico son factores de riesgo conocidos para el NIP asociado a i-mTOR<sup>155</sup>. Representa un aparente efecto de clase i-mTOR, descrito tanto con SRL, como con EVE, o con temsirolimus en pacientes tratados por neoplasia<sup>156</sup>. La toxicidad pulmonar parece que es de dos tipos: 1) inmunoalérgica o 2) relacionada con la dosis<sup>157</sup>. La primera sigue siendo especulativa: i-mTOR podría promover la autofagia celular, exponiendo los antígenos en la superficie de las células endoteliales alveolares con la posterior activación de los linfocitos, lo que llevaría a la alveolitis y la neumonía intersticial<sup>158</sup>. El VEGF también se ha sugerido como mecanismo implicado en la NIP<sup>159</sup>. La incidencia de NIP asociada a i-mTOR oscila entre 5-39% tanto en análisis retrospectivos como en ensayos controlados prospectivos<sup>156 160</sup>.



Sin embargo, su verdadera incidencia está muy subestimada. En el RECORD-1, un ensayo clínico aleatorizado de EVE vs placebo para el tratamiento del carcinoma de células renales<sup>161</sup>, se encontraron nuevos hallazgos radiológicos pulmonares en el 53,9% de los pacientes, mientras que solo el 13,1% se diagnosticaron clínicamente. La neumonitis asociada a SRL se resuelve de forma espontánea con la retirada del fármaco<sup>153 161</sup>. Las neumonitis por i-mTOR en trasplantados renales son menos frecuentes en pacientes en tratamiento con EVE que en los que recibieron SRL, y en algunos casos la neumonitis se resolvió tras la conversión de SRL a EVE<sup>162 163</sup>. Se recomienda especial precaución cuando se sospecha una neumonía en un paciente trasplantado con i-mTOR como tratamiento inmunosupresor; ante la presencia de clínica respiratoria atípica es mandatorio relizar un TAC o un lavado broncoalveolar para descartar la presencia de NIP<sup>91 126</sup>.

## 1.5 VENTAJAS DE LOS FÁRMACOS I-MTOR

### 1.5.1 Estrategias para prevenir la progresión de la DCI.

La DCI, una vez establecida es irreversible<sup>21 31</sup>, por ello el principal objetivo debería ser retrasar todo lo posible el desarrollo de fibrosis para así preservar la función renal. Las estrategias más utilizadas para impedir o retrasar su desarrollo son el uso de fármacos inmunosupresores menos nefrotóxicos y el control de factores de riesgo como pueden ser la hipertensión arterial, la diabetes, la dislipemia, la proteinuria y las infecciones (CMV, BK, infecciones del tracto urinario)<sup>14</sup>. El diagnóstico precoz de DCI (gracias a la realización cada vez más extendida de biopsia de protocolo) permite individualizar de una forma más precisa el tratamiento inmunosupresor, además de poder tratar el rechazo subclínico si lo hubiera, siendo estos aspectos esenciales para no

llegar a un diagnóstico de DCI demasiado tardío en el que el margen terapéutico sea demasiado estrecho<sup>164</sup>. El uso de ICN se puede asociar con grados similares de daño histológico<sup>30</sup>. Para aumentar la supervivencia a largo plazo del injerto renal<sup>30 165 166</sup>, así como para prevenir el desarrollo de ERC en receptores de otros trasplantes de órganos sólidos<sup>167</sup>, se recomendaba minimizar la exposición acumulativa a los ICN. Sin embargo, el intento de utilizar terapias *de novo* libres de ICN para minimizar el desarrollo y progresión de la DCI durante estos últimos 15-20 años, ha producido resultados dispares<sup>167 168</sup>.

En los inicios del uso de SRL (a diferencia de lo que se observó en estudios preclínicos y clínicos en fase II), la combinación SRL con CsA potenció la nefrotoxicidad de esta última, objetivando que tras la suspensión de CsA se producía una mejoría de la función renal y una disminución en los efectos secundarios derivados de su uso prolongado<sup>169 170 171 172</sup>. El análisis de los datos del *Rapamune Maintenance Regimen Study Group*<sup>169 170 171 172</sup>, del *Sirolimus Renal Function Study Group*<sup>173</sup> y el *UK Sirolimus Study*<sup>174</sup>, estableció el concepto novedoso de que la suspensión de CsA en pacientes trasplantados renales, tanto de donante vivo como de donante fallecido, cuya terapia inmunosupresora *de novo* era CsA, SRL y esteroides, no sólo evitaba el rechazo agudo, sino que además mejoraba la función renal. A la vista de estos resultados, se iniciaron numerosos estudios en los que se intentó demostrar si la conversión de ICN a SRL se podía utilizar y era igual de beneficiosa en pacientes trasplantados renales que ya sufrían un deterioro en la función renal debido a DCI (IF/TA NOS). Así, Watson y col.<sup>175</sup> llevaron a cabo un estudio controlado y aleatorizado, en el que 40 pacientes trasplantados renales diagnosticados de *nefropatía crónica del injerto*, se randomizaron a continuar

tratamiento con CsA o a conversión a SRL con unos niveles objetivo de SRL 5-15 ng/mL. La suspensión de CsA produjo una mejoría del FG de 8,5 mL/min desde el basal durante los 3 primeros meses del cambio, mientras que los pacientes que continuaron con CsA siguieron sufriendo una pérdida de 4,3 mL/min de FG desde el basal a los 3 meses del inicio del estudio. Estos autores encontraron una correlación positiva entre el FG basal y la mejoría del mismo a los 12 meses de la conversión. No se observó ningún cambio significativo ni en la proteinuria ni en los eventos de rechazo agudo tras la conversión a SRL. De igual modo, en un estudio de cohortes retrospectivo realizado con pacientes trasplantados renales en tratamiento inmunosupresor con ICN + antiproliferativo + esteroides, Cardinal y col.<sup>176</sup> mostraron cómo la conversión temprana de ICN a SRL se acompañó de buenos resultados: función renal estable, ligero aumento de la proteinuria, incidencia de BPAR de 3,7% y disminución del FG 0,96 mL/min a los 2 años de la conversión. Con estos y otros datos se sugirió que la conversión temprana de ICN a SRL podría resultar beneficiosa para preservar la función renal.

En cuanto a los cambios histológicos que se observan tras la conversión de un ICN a SRL también se han realizado estudios aleatorizados y controlados, como el que publicó Stallone y col.<sup>177</sup> en el que 84 pacientes trasplantados renales con *nefropatía crónica del injerto* diagnosticada se aleatorizaron a continuar con CsA o a convertirlos a SRL, analizando a los 24 meses los cambios acaecidos en la biopsia basándose en los criterios de Banff y en la expresión de la proteína  $\alpha$ -SMA, un marcador de activación de fibroblastos; la rama en la que se suspendió la CsA se asoció a una mejora en la clasificación de *nefropatía crónica del injerto* junto con una menor expresión de la  $\alpha$ -SMA. Años después, Pontrelli y col.<sup>178</sup> evaluaron también los cambios histológicos

objetivados a los 24 meses postconversión a SRL, suspendiendo el ICN, y realizaron un estudio *in vitro* para examinar los efectos de SRL en la expresión del gen inhibidor-1 del activador del plasminógeno (PAI-1) en células tubulares proximales cultivadas. La conversión a SRL se asoció con una regresión significativa de la glomeruloesclerosis y una reducción significativa en la tasa de progresión de la fibrogénesis. El grado de fibrosis intersticial aumentó solo un 26% desde el inicio en los grupos tratados con SRL en comparación con un aumento del 112% en el grupo que continuó con la terapia con ICN. Además, el uso de SRL se asoció con una disminución significativa en la expresión de PAI-1 glomerular y tubulointersticial tanto en modelos *ex vivo* como *in vitro*. Estas observaciones indican que SRL tiene el potencial de disminuir la expresión de PAI-1, lo que a su vez evita la deposición de la matriz extracelular que puede prevenir la progresión de la fibrosis intersticial, el sello distintivo de la progresión en IF/TA NOS.

Durante estos años se han realizado varios ensayos clínicos randomizados en pacientes tratados con ICN que fueron convertidos en diferentes momentos post-trasplante a i-mTOR, siendo el objetivo principal en la mayoría de ellos comparar la evolución de la función renal. En la tabla 2 están recogidos los 8 más representativos, y como puede observarse en ella, el cambio de tratamiento comporta en la mayoría de ellos una mejoría de la misma a favor del uso de i-mTOR, fundamentalmente cuando se compara con mantenimiento con CsA<sup>179 180 181 182 183 184</sup>, pero los beneficios no son evidentes cuando se analizan los datos de pacientes en los que se mantiene TAC<sup>93 95 185</sup>. Además, la conversión se asocia a un incremento de la incidencia de rechazo (sobre todo cuando se compara con TAC) y una alta tasa de suspensión por efectos adversos en el grupo tratado con i-mTOR.

Entre los ensayos clínicos de conversión precoz a i-mTOR se encuentra el *ensayo clínico CONCEPT*<sup>179</sup> y su extensión post-CONCEPT<sup>180</sup>, un estudio de conversión de CsA a SRL a los 3 meses del trasplante renal, en el que Lebranchu y col realizaron un seguimiento a 1 año y a 4 años del trasplante, confirmando que el FG fue superior a 1 año y a los 4 años en el grupo convertido, sin observarse diferencias significativas ni en la incidencia de BPAR ni en la supervivencia de injerto y paciente.

El *ensayo clínico SPARE-The-Nephron*<sup>93</sup> realizó la conversión a i-mTOR a los 115 días de media, La conversión a terapia basada en SRL se asoció con una ganancia de casi 6 mL/min de FG calculado con iodotalamato a los 12 meses. El BPAR, la pérdida del injerto y la muerte del paciente fueron similares en ambos grupos. Sin embargo, durante el primer año, casi el 19% de los pacientes en el grupo SRL-MMF tuvieron que suspender el tratamiento debido a eventos adversos<sup>93</sup>. A los 24 meses el FG en el grupo de SRL fue mayor que en el grupo global de ICN aunque no se objetivaron diferencias cuando se analizaron únicamente los enfermos con TAC. Recientemente, se han analizado los datos de esta población a los 8 años de la conversión observándose una tendencia a mantener FG mejores en la rama convertida a i-mTOR (p=NS)<sup>186</sup>.

En el *ensayo clínico SMART*<sup>181 182</sup> el FG al año y a los 3 años de la conversión a i-mTOR realizada en las primeras 2 semanas post-trasplante, también fue claramente mejor al compararla con la rama control (CsA), no existiendo diferencias estadísticamente significativas ni en la incidencia de BPAR ni en la supervivencia del injerto y el paciente.

El *ensayo clínico CENTRAL*<sup>183</sup> randomizó a la séptima semana post-trasplante a EVE o rama control con CsA, no encontrando mejoría significativa en el FG en el grupo

de EVE a los 12 meses (68,1 mL/min vs 69,4 mL/min), pero al comparar la diferencia de FG en cada grupo entre el basal y al año de la randomización las diferencias fueron estadísticamente significativas; la tasa de suspensión por efectos adversos fue del 25,5%, y se observó mayor incidencia de BPAR en el grupo de EVE pero la supervivencia del injerto al año fue del 100% (p=NS). En el 2011, *Heliman y col.*<sup>185</sup> llevaron a cabo un ensayo clínico en el que se convirtió a SRL en el primer mes postrasplante, reportando una mejoría en el FG y una incidencia de BPAR similar en ambos grupos.

El ensayo clínico ZEUS<sup>184</sup> consideró conversión temprana de CsA a EVE al 4.5 mes postrasplante, observándose una mejoría estadísticamente significativa del FG en el grupo i-mTOR, y aunque la incidencia de BPAR fue mayor en el grupo i-mTOR (9,7% versus 3,4%, p=0,03), la supervivencia del injerto y del paciente fueron del 100%. La tasa de suspensión por efectos adversos en la rama de EVE durante el primer año fue del 17,4%, y cabe destacar que el 40% de los pacientes randomizados a EVE tuvieron que reiniciar el tratamiento con ICN al final del estudio con un seguimiento de 50 meses.

Recientemente, se ha publicado un metaanálisis que analiza estos 6 últimos estudios aquí citados, en los que se retira ICN y se introduce i-mTOR en los primeros 6 meses del trasplante<sup>187</sup>. Los resultados de este metaanálisis objetivaron que tanto el FG como la creatinina sérica al año fueron mejores en el grupo i-mTOR, y aunque la incidencia de BPAR fue significativamente mayor en este grupo i-mTOR, la supervivencia del injerto al año fue similar en ambos grupos.

Por último, dentro de las conversiones precoces a i-mTOR el ensayo clínico de mayor envergadura publicado hasta el momento es el ELEVATE<sup>95</sup>. El ELEVATE es un ensayo multicéntrico y abierto, con un seguimiento de 24 meses, en el que 717 pacientes

trasplantados renales fueron randomizados a las 10-14 semanas del trasplante, a sustituir ICN por EVE (n=360) ó permanecer con ICN (n=357: 232 TAC y 125 CsA), todos ellos con MMF y esteroides. El objetivo primario del estudio fue valorar la diferencia en la tasa de filtrado glomerular estimado (eGFR) desde el momento de la conversión hasta el mes 12. Cuando se compararon los pacientes tratados con EVE vs CsA se encontró mejor eGFR y similar tasa de BPAR en el grupo de conversión. Sin embargo, cuando se compararon los datos con TAC se objetivó similar eGFR y mayor incidencia de rechazo en el grupo tratado con EVE. Otros hallazgos del estudio fueron mayor incidencia de aparición de ADEs y de efectos adversos que llevaron a la suspensión del fármaco en el grupo de EVE (23,6%).

En cuanto a los estudios de conversión tardía, el de mayor tamaño muestral es el *ensayo CONVERT*<sup>92</sup>, un estudio multicéntrico que incluyó 830 pacientes con un diagnóstico establecido de *nefropatía crónica del injerto* en un período postrasplante que abarcaba desde el 6º mes al 60º mes, con un seguimiento de 2 años. Estos pacientes se aleatorizaron a 2 ramas según permaneciesen con ICN (n=275) o se convirtieran a SRL (n=555). Al finalizar el periodo de seguimiento de 2 años, el análisis de datos se estratificó de acuerdo con los grupos de tasa de filtrado glomerular (TFG). Para los pacientes con una TFG inicial >40 mL/min en el momento de la inclusión (calculados por fórmula de Nankivel), el análisis por terapia reveló una mejoría global en la TFG en pacientes aleatorizados a SRL vs terapia con CsA [62,6 mL/min (n = 370) vs 59,9 mL/min (n = 201), p = 0,009] al final de 2 años de seguimiento. Sin embargo, casi el 20% de los pacientes aleatorizados a SRL tuvieron que interrumpir la terapia asignada debido a eventos adversos siendo los más frecuentes hiperlipidemia, diarrea, anemia y edema.

La incidencia de BPAR fue casi similar en ambos grupos. Con estos datos arrojados a los 2 años de la inclusión en el estudio, se hizo evidente que aquellos pacientes con FG iniciales  $<40$  mL/min presentaban un empeoramiento de la función renal y mayor incidencia de efectos adversos, por lo que dejaron de incluirse pacientes con filtrados basales  $<40$  mL/min. Un dato importante que aportó el estudio CONVERT<sup>92</sup> fue que la mejoría observada en la TGF tras la conversión a SRL estaba inversamente relacionada con el grado de proteinuria basal. La tendencia al aumento de la proteinuria se relacionó con la histología basal, de forma que una mayor puntuación en la clasificación de Banff para *nefropatía crónica del injerto*, con un mayor porcentaje de glomérulos escleróticos al inicio del estudio, se correlacionó de forma significativa con el empeoramiento de la proteinuria. Por lo tanto, el estudio CONVERT reveló que la terapia de conversión de ICN a SRL mejoraba la función renal durante un seguimiento de 2 años y sobre todo en el subgrupo de pacientes con un TFG estimado  $>40$  mL/min y un cociente urinario de proteína/creatinina  $\leq 0,11$  mg/g<sup>92</sup>.

El tiempo transcurrido desde el trasplante hasta el momento de la conversión a SRL influye en la supervivencia del injerto y en la función renal. En un estudio de conversión tardía a SRL realizado con 60 trasplantes renales, se observó que el principal determinante del deterioro continuo en la función del injerto fue el tiempo hasta la terapia de conversión, de tal forma que los pacientes convertidos a SRL tras los 5 años de trasplante renal no obtuvieron beneficio alguno con este cambio<sup>188</sup>. Wali y col.<sup>94</sup> demostraron que cuanto menos tiempo transcurriera del trasplante a la conversión mayores serían los beneficios obtenidos en cuanto a mejoría de función renal.



Tabla 2 Ensayos Clínicos Multicéntricos, Prospectivos y Randomizados de conversión de ICN a i-mTOR en el trasplante renal

Referencia	Diseño del estudio	Tiempo a la conversión	Grupo 1	Grupo 2	Función renal (Gpo 1 vs Gpo 2)	BPAP en 1º año (Gpo1 vs Gpo2)	Suspensión por efectos adversos i-mTOR en 1º año	Observaciones
Lebranchu <sup>179</sup> , 2009 (Ensayo CONCEPT)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=193), 12 meses	3 meses	SRL+MMF+EST (Inducción: Daclizumab) (n=95)	CsA+MMF+EST (Inducción: Daclizumab) (n=97)	ITT: 68,9 mL/min vs 64,4 mL/min (p=0,017)	17% vs 8% (p=0,071)	16,8%	Superv, Injerto: 99% (p=NS) Superv, Paciente: 97% (p=NS)
Lebranchu <sup>180</sup> , 2011 (Ensayo post-CONCEPT)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=162), 48 meses	3 meses	SRL+MMF+EST (Inducción: Daclizumab) (n=77)	CsA+MMF+EST (Inducción: Daclizumab) (n=85)	ITT: 62,6 mL/min vs 57,1 mL/min (p=0,013) OT: 67,5 mL/min vs 57,4 mL/min (p=0,002)			Superv, Injerto: 97% (p=NS) Superv, Paciente: 97,4% (p=NS)
Weir <sup>93</sup> , 2010 (Ensayo SPARE The Nephron)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=299), 12 meses	115 días (30-180 días)	SRL+MMF (n=148)	ICN+MMF (n=151)	ITT: 61,9 mL/min vs 58 mL/min (p=0,03)	7,4% vs 6% (p=NS)	19,2%	Superv, Injerto: 98% (p=NS) Superv, Paciente: 100% (p=NS)
Weir <sup>186</sup> , 2017 (Long-Term Follow-up of the SPARE The Nephron)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=128), 8 años tras conversión	115 días (30-180 días)	SRL+MMF (n=66)	ICN+MMF (n=62)	ITT: 63,2 mL/min vs 59,2 mL/min (p=NS)			11 éxitos: SRL (5) y ICN (6) 22 pérdidas de injerto: SRL (10) y ICN (12)
Guba <sup>181</sup> , 2010 (Ensayo SMART)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=140), 12 meses	10-24 días	SRL+MMF+EST (Inducción: ATG) (n=69)	CsA+MMF+EST (Inducción: ATG) (n=71)	ITT: 64,5 mL/min vs 53,4 mL/min (p=0,001) OT: 67,3 mL/min vs 54,3 mL/min (p<0,001)	17,4% vs 15,5% (p=NS)	36,2%	Superv Injerto: 99% (p=NS) Superv, Paciente: 99% (p=NS)

Referencia	Diseño del estudio	Tiempo a la conversión	Grupo 1	Grupo 2	Función renal (Gpo 1 vs Gpo 2)	BPAR en 1º año (Gpo1 vs Gpo2)	Suspensión por efectos adversos i-mTOR en 1º año	Observaciones
Guba <sup>142</sup> , 2012 (Seguimiento Ensayo SMART)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=132), 36 meses	10-24 días	SRL+MMF+EST (Inducción: ATG) (n=66)	CsA+MMF+EST (Inducción: ATG) (n=66)	ITT: 60,88 mL/min vs 53,72 mL/min (p=0,031)		59,4% en seguimiento 36 meses	Superv. Injerto: 96% (p=NS) Superv. Paciente: 99% (p=NS)
Mjörnstedt <sup>143</sup> , 2012 (Ensayo CENTRAL)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=269), 12 meses	7ª semana	EVE+MMF+EST (n=92)	CsA+MMF+EST (n=90)	ITT: Δ año- basal 4,9 mL/min vs 0 mL/min (p=0,012) OT: Δ año- basal 8,7 mL/min vs -0,4 mL/min (p<0,001)	27,5% vs 11% (p=0,004)	25,5%	Superv. Injerto: 100% (p=NS) Superv. Paciente: 98% (p=NS)
Heliman <sup>145</sup> , 2011	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=122), 12 meses	1 mes	SRL+MMF+EST (Inducción: Basiliximab) (n=62)	TAC+MMF+EST (Inducción: Basiliximab) (n=60)	ITT: 59,6 mL/min vs 61 mL/min (p=NS) OT: 65,6 mL/min vs 63,2 mL/min (p=NS)	13% vs 5% (P=NS)	37%	
Budde <sup>144</sup> , 2011 (Ensayo ZEUS)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=300), 60 meses	4,5 meses	EVE (Inducción: Basiliximab) (n=155)	CsA (Inducción: Basiliximab) (n=145)	ITT: 66,7 mL/min vs 60,4 mL/min (p=0,004) OT: 69,2 mL/min vs 63,4 mL/min (p=0,044)	9,7% vs 3,4% (p=0,03)	17,4% El 40% de pacientes con EVE tuvieron que reiniciar ICN a los 5 años de seguimiento)	Superv. Injerto: 100% (p=NS) Superv. Paciente: 100% (p=NS)
Fijter <sup>95</sup> , 2017 (Ensayo ELEVATE)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=717), 24 meses	10-14 semanas	EVE+MPA+EST (Inducción: Basiliximab) (n=360)	ICN+MPA+EST (Inducción: Basiliximab) (n=357)	ITT: 64,1 mL/min vs 60,4 mL/min (p=0,042) * A los 24 meses EVE vs FK 62 mL/min vs 59 mL/min p=NS), EVE vs CsA 62 mL/min vs 53 mL/min p<0,001)	9,7% vs 4,8% (p=0,014) * A los 24 meses diferencias estadísticamente significativas con FK, pero no con CsA	23,6%	
Schena <sup>92</sup> , 2009 (Ensayo CONVERT)	Multicéntrico, Prospectivo, Randomizado (n=830), 24 meses	37 meses (6-60 meses)	SRL (n=555)	ICN (n=275)	ITT de 743 con TFG >40 mL/min (89,5%): 59 mL/min vs 57,7 mL/min (p=NS)	(p=NS)	20%	

Realizaron un estudio de cohortes de 159 pacientes durante los años 2000-2002, que se convirtieron de TAC a SRL por deterioro progresivo de función renal, es decir, pacientes con DCI no necesariamente biopsiados. Durante los primeros 3 meses, en 14% de los pacientes se suspendió SRL por efectos adversos. Tras un análisis por intención de tratar, en más de dos tercios de los pacientes que continuaron la combinación de terapia SRL y MMF (n=136), se observó una mejora significativa en el eGFR. Analizando el subgrupo de pacientes en los que progresó el deterioro de función renal se objetivó que partían inicialmente de cifras más elevadas de creatinina sérica y menor eGFR (medias de 3,8 mg/dL y 19 mL/min/1,73m<sup>2</sup>, respectivamente) y que el cambio de tratamiento se realizó más tardíamente (34 meses vs 17 meses en el grupo en el que se objetivó mejoría en la función del injerto). La comparación de las biopsias de aloinjerto antes y 12 meses después de la conversión demostró mejoría significativa en el grado de FI/AT e hialinosis arteriolar<sup>94</sup>.

Parece claro en la literatura que el principal determinante de la mejoría en la función del injerto en el período posterior a la conversión es el nivel de creatinina sérica basal<sup>92 189</sup> y el tiempo a la conversión<sup>94</sup>, y que una vez ajustado por creatinina basal, los factores de riesgo más potentes para que prosiga el deterioro de función renal a pesar de haber suspendido los ICN son el grado inicial de DCI, los episodios de rechazo agudo y la proteinuria basal. Como hemos comentado anteriormente, se han hecho diferentes propuestas para recomendar qué pacientes pueden beneficiarse o no de la conversión. Así, Diekmann y col.<sup>146</sup> establecieron un punto de corte de proteinuria en 800 mg/día por debajo del cual el valor predictivo positivo para predecir la respuesta positiva al tratamiento con SRL era del 90%. Este punto de corte también se asoció con una mejor

supervivencia del injerto<sup>190</sup>. De la misma forma, Ruiz y col.<sup>191</sup> encontraron que a menor proteinuria basal, más beneficiosa era la conversión.

Con esta evidencia podríamos concluir que que la introducción temprana de i-mTOR permite una minimización importante de los ICN. Los i-mTOR, tanto EVE como SRL, debido a su mecanismo de acción y a su perfil de nefrotoxicidad favorable, mejoran el FG, disminuyen la creatinina sérica, y todo ello con una supervivencia del injerto equivalente a los regímenes convencionales con ICN. No obstante, debido a la mayor tasa de rechazo que presentan estas nuevas pautas inmunosupresoras, en los pacientes con un riesgo inmunológico moderado-alto se recomienda una especial cautela en la conversión temprana a i-mTOR<sup>187</sup>.

Otras estrategias de minimización se han investigado en grandes ensayos realizados en los últimos años. En el estudio *Efficacy Limiting Toxicity Elimination Symphony*<sup>96</sup> un régimen de daclizumab, MMF y corticosteroides en combinación con TAC a dosis bajas fue superior a los regímenes que incluyeron la inducción con daclizumab más dosis bajas de CsA, dosis bajas de SRL o dosis estándar de CsA sin inducción, para mejorar la función renal, la supervivencia del injerto y las tasas de rechazo agudo<sup>96 106</sup>.

El estudio de fase III Belatacept Evaluación de nefroprotección y eficacia como primera línea de prueba de inmunosupresión (BENEFIT)<sup>192</sup> evaluó un régimen más intensivo o menos intensivo de belatacept (bloqueador de coestimulación) vs CsA en adultos que recibieron un trasplante renal de donantes vivos o fallecidos. Al año, el grupo belatacept tenía una función de injerto superior, pero se asoció con un mayor índice de rechazo agudo temprano y trastornos linfoproliferativos postrasplante<sup>192</sup>. A

los 3 y 5 años (ensayo BENEFIT-EXT)<sup>193 194</sup>, se observó una función renal superior en el grupo de belatacept, sin objetivar diferencias en la tasa de rechazo agudo, infecciones, tumores malignos, pérdida de injerto y supervivencia del paciente entre los grupos. Tras un seguimiento de 7 años, recientemente se publicaron los resultados finales de este estudio observándose que la supervivencia del paciente y del injerto, y la eGFR media fueron significativamente más altos con belatacept (tanto el régimen más intensivo y el régimen menos intensivo) que con CsA<sup>195</sup>.

Igualmente se han llevado a cabo dos estudios piloto que han evaluado la combinación de i-mTOR con belatacept en pacientes trasplantados que recibieron inducción con anticuerpos antilinfocitarios (timoglobulina<sup>196</sup> o alemtuzumab<sup>197</sup>) y sin esteroides de mantenimiento. En ambos se han observado tasas muy bajas de rechazo agudo, muy buena función del injerto y un perfil aceptable de efectos secundarios. Por lo tanto, parece que el bloqueo de coestimulación con belatacept en combinación con la inhibición de mTOR permite una inmunosupresión potente, libre de ICN y sin esteroides, en el trasplante renal con excelentes resultados clínicos y un perfil aceptable de efectos secundarios<sup>198</sup>. Esta combinación tiene una potencia anti-rechazo agudo comparable con el tratamiento estándar consistente en terapia de inducción con anticuerpos, TAC, MMF y esteroides, y además está libre de los efectos secundarios derivados de los esteroides y de los ICN.

El papel del alemtuzumab (potente anticuerpo anti-linfocitos) como tratamiento de inducción seguido de ICN y MMF a dosis bajas y sin esteroides (Estudio 3C en el Reino Unido<sup>199</sup>) como tratamiento inmunosupresor en el trasplante renal se comparó con el tratamiento de inducción con basiliximab, seguido de dosis estándar de TAC, MMF y

esteroides. Los pacientes fueron asignados aleatoriamente al tratamiento de inducción con alemtuzumab o al tratamiento de inducción con basiliximab. En comparación con el tratamiento estándar con basiliximab, la terapia de inducción basada en alemtuzumab seguida de unos niveles reducidos de ICN y MMF, sin esteroides, redujo el riesgo de BPAR (17% vs 7%). No hubo diferencia en la incidencia de infecciones y pérdida de injerto<sup>198</sup>.

A la vez, también se han examinado varias estrategias de intervención para bloquear las cascadas de eventos intracelulares y extracelulares a nivel molecular, tanto a nivel experimental como clínico, para prevenir la DCI, pero se ha logrado un éxito limitado<sup>166</sup>. Las estrategias preventivas y de tratamiento dirigidas a la vía de señalización TGF- $\beta$ 1 son opciones antifibróticas razonables en el trasplante renal, si no fuera porque la expresión de TGF- $\beta$  se considera beneficiosa por su efecto en ganar tolerancia<sup>166</sup>.

---

### 1.5.2 Riesgo cardiovascular.

Otra de las características de los i-mTOR es su relación con el riesgo cardiovascular. En el trabajo de Sciarretta y col.<sup>200</sup> se estudiaron las vías mTOR en el desarrollo cardíaco utilizando ratones *knockout* e inhibición con rapamicina. La conclusión del trabajo fue que, tanto en el desarrollo embrionario como en el desarrollo post-natal, la ruta mTOR es una vía anabólica necesaria para el crecimiento y desarrollo de la estructura cardíaca, el mantenimiento de la función cardíaca y la supervivencia de los cardiomiocitos. Si en la edad adulta a estos ratones se les somete a estrés (son ratones con cardiopatías congénitas, hipertensos, etc.) cuando la vía mTOR está activa, sufren hipertrofia cardíaca, envejecimiento, disfunción, etc., y la vida media se acorta significativamente. Sin embargo, en aquellos ratones tratados con rapamicina, la vida

media se alarga pese a estar sometidos al mismo estrés<sup>200</sup>. En la publicación de Stoumpos y col.<sup>201</sup> se compararon los principales inmunosupresores haciendo una revisión de las publicaciones en función de los principales factores de riesgo cardiovascular. Los ICN (sobre todo CsA) son los fármacos que más aumentan la hipertensión arterial por vasoconstricción arteriolar, activación del eje renina-angiotensina, efectos directos sobre el aparato yuxtaglomerular e incremento de la reabsorción tubular de sodio<sup>201 202</sup>. Los ICN también favorecen el desarrollo de NODAT y de dislipemia<sup>201</sup>. Por el contrario, los i-mTOR no parecen tener efecto sobre la hipertensión arterial<sup>201</sup>, y al ser capaces de regular el crecimiento celular, podrían ser útiles en la regresión de la hipertrofia cardíaca establecida, tal y como demuestra Paoletti con SRL<sup>202</sup> y con EVE<sup>203</sup>. La regresión de la hipertrofia ventricular izquierda (HVI) después del trasplante renal puede estar influenciada por la inmunosupresión, de tal manera que en este último estudio publicado en el 2012 por Paoletti<sup>202</sup> se randomizaron 30 trasplantes para recibir tratamiento estándar con CsA y MMF, o dosis reducidas de CsA asociada con EVE. Aunque se trata de un estudio con un número reducido de pacientes (10 en la rama de EVE y 20 controles), los autores encontraron que los pacientes con EVE presentaban una disminución de la HVI medida por ecocardiografía. Sin embargo, estos hallazgos no se han confirmado en dos ensayos clínicos con mayor número de pacientes y por lo tanto, mayor fiabilidad desde el punto de vista estadístico. El estudio EVITA<sup>204</sup> fue un ensayo clínico abierto, multicéntrico, fase IV de 24 meses, en el que 71 trasplantes renales fueron aleatorizados entre 6 meses y 3 años post-trasplante a continuar con TAC + ácido micofenólico (MPA), o convertirse a EVE + MPA. Su objetivo fue evaluar si la conversión a EVE podría reducir el índice de masa de

ventrículo izquierdo (LVMi) en el mes 24. En él se observó que LVMi al mes 24 disminuyó sin diferencias entre los grupos (TAC: 54,0 g/m<sup>2</sup> vs. 48,2 g/m<sup>2</sup>, EVE: 53,4 g/m<sup>2</sup> vs. 49,4 g/m<sup>2</sup>). La prevalencia de HVI al inicio y al mes 24 fue del 59,4% y 40,6% en el grupo de TAC y del 57,1% y 50,0% en el grupo de EVE. La conversión de EVE se asoció con mejoría de la HVI concéntrica. El prolapéptido N-terminal de procolágeno tipo I al mes-24 mostró una mayor reducción en el grupo EVE (51,6 mg vs 58,2 mg, p=0,004). La conversión de TAC a EVE se asoció con una mejora significativa de eGFR (p=0,031). Los eventos adversos fueron similares entre los grupos, sin episodios de rechazo o pérdida de injerto<sup>204</sup>. Posteriormente, el ensayo clínico ELEVATE<sup>95</sup>, de conversión temprana de ICN a EVE y con más de 700 pacientes randomizados, no encontró diferencias significativas en el LVMi medido por ecocardiografía a los 12 meses y a los 24 meses del trasplante, entre las dos ramas del estudio.

Los i-mTOR favorecen la dislipemia<sup>201 205</sup> y la aparición de NODAT<sup>206</sup>, ambos factores de riesgo clásico de aterosclerosis. Aumentan los niveles de LDL-colesterol pero por otra parte activan la lipólisis y previenen la acumulación de lípidos<sup>205</sup>. Sin embargo, a nivel experimental se han descrito efectos anti-ateroscleróticos, como son la deplección de los macrófagos en placa de ateroma, la inducción de la autofagia y la activación de bombas de expulsión de colesterol<sup>205</sup>. Los i-mTOR, cuando se usan como inmunosupresores (SRL, EVE), pueden inducir NODAT con mayor incidencia al usarlos en combinación con ICN (incremento de 11,0% a 38,1%)<sup>206</sup>. Los i-mTOR utilizados como agentes anticancerosos (EVE, temsirolimus) aumentan significativamente el riesgo de NODAT y multiplican por 5 el riesgo de hiperglucemia grave. El efecto deletéreo de los i-mTOR sobre el metabolismo de la glucosa se debe a una mayor resistencia a la



insulina<sup>130 135 205</sup> y a una reducción de la secreción de insulina a través de un efecto directo sobre las células beta pancreáticas<sup>134 206</sup>.

---

### 1.5.3 Capacidad antitumoral

Dados los antecedentes de relación entre los inmunosupresores “clásicos” (ICN) y el desarrollo de enfermedad maligna, en un principio parecía difícil imaginar que los fármacos i-mTOR fueran a tener licencia para el tratamiento de algunos tumores, incluidos los cánceres renales y angiomiolipomas asociados con el complejo de esclerosis tuberosa<sup>207</sup>. El primer indicio de eficacia fue la demostración de que cambiar un ICN a SRL podría revertir y curar el sarcoma de Kaposi<sup>208 209</sup>. Los oncogenes son proteínas que al activarse dan lugar a tumores y muchos de ellos siguen la vía de activación de mTOR, con lo cual, la inhibición de estas quinasas inhibe también la progresión y la aparición de tumores<sup>59 65</sup>.

La enfermedad maligna es mucho más frecuente en la población trasplantada de órgano sólido que en la población general<sup>57 58</sup>, siendo una causa importante de muerte con injerto funcionante en el postrasplante<sup>51 52</sup>. Este aumento del riesgo de malignidad como consecuencia de la inmunosupresión, es más marcado para los tumores de piel, particularmente para el carcinoma de células escamosas y el cáncer de células de Merkel<sup>206</sup>. Recientemente se ha publicado un análisis de una serie de más de 11.000 trasplantados de órganos sólidos en la que se detecta un riesgo doble de desarrollar cáncer en el postrasplante, que es aún mayor para los cánceres relacionados con infecciones víricas como el sarcoma de Kaposi y el linfoma no Hodgkin<sup>52</sup>. La terapia inmunosupresora de mantenimiento que reciben los pacientes trasplantados promueve

la oncogénesis no sólo por alteración en la vigilancia inmunológica sino también porque predispone a un ambiente más proclive a la replicación viral; es importante tener en cuenta tanto la intensidad general de inmunosupresión a la que es sometido un paciente, como los efectos específicos de cada inmunosupresor<sup>59</sup>.

Una de las asociaciones mejor documentadas entre inmunosupresión y riesgo de cáncer recae en los fármacos ICN<sup>210</sup>. El tratamiento con ICN produce un aumento del riesgo de padecer cáncer de forma dosis dependiente tanto en trasplantes renales<sup>211</sup>, como hepáticos<sup>212</sup> o cardíacos<sup>213</sup>. Cuánto se debe a la gran potencia inmunosupresora que poseen estos fármacos y cuánto se debe a efectos específicos prooncogénicos de los ICN, como son la estimulación del TGF-beta<sup>214</sup> y el incremento en la producción de VEGF<sup>215</sup> es algo no totalmente aclarado.

Sin embargo, los fármacos i-mTOR, (también conocidos como inhibidores de la señal de proliferación) poseen capacidad antitumoral al ejercer efectos antioncogénicos probados tanto *in vitro* como *in vivo*<sup>216</sup>. La vía mTOR es primordial para la activación celular por factores de crecimiento y citoquinas como IL-2 y VEGF<sup>217</sup>. Tras unirse a sus receptores activan la PIK3 produciendo fosforilación de Akt y activación de mTOR. Esta vía está regulada por una fosfatasa y una tensina codificadas en el cromosoma 10 (PTEN) que se pierden o mutan en varios cánceres, permitiendo una sobreactivación de mTOR, de forma que las células se hacen resistentes a la apoptosis<sup>216</sup>. Muchos oncogenes siguen la vía de activación de mTOR con lo cual, la inhibición de estas quinasas disminuye la progresión y la aparición de tumores al impedir la activación de estos genes. Por lo tanto, el uso de i-mTOR puede frenar actividades celulares relacionadas con el ciclo celular, y respuestas adaptativas que son necesarias para el desarrollo, crecimiento y

expansión de las células malignas, incrementando la susceptibilidad a la apoptosis y reduciendo la angiogénesis<sup>214 215</sup>.

Estudios preclínicos han demostrado que i-mTOR previenen el crecimiento de células neoplásicas *in vitro* y *in vivo*<sup>214</sup>, y ensayos clínicos han podido demostrar una reducción en la incidencia de cáncer en pacientes que están bajo terapia inmunosupresora con i-mTOR (con o sin ICN) comparados con aquellos que los están con ICN únicamente. Kauffman y col.<sup>218</sup>, con los datos del registro americano de trasplante demuestran que el riesgo de aparición de neoplasias *de novo* (neoplasias de piel y neoplasias de órgano sólido) es mucho menor en los pacientes tratados con i-mTOR cuando se compara con pacientes en tratamiento con ICN. Además, i-mTOR protege del desarrollo de tumores aún en terapias de asociación ICN + i-mTOR<sup>216</sup>.

---

#### 1.5.4 Capacidad antiviral

La ruta mTOR, especialmente la mTORC1, está implicada en todos los procesos anabólicos de síntesis de proteínas, de lípidos y del aumento de síntesis de mitocondrias. Otra de las características de estas rutas es su intervención en la translocación del mensajero y en la elongación en la síntesis de ribosomas, maniobras que necesitan los virus para sobrevivir ya que carecen de maquinaria de replicación y utilizan la de nuestras células. Al inhibirla, se está impidiendo la replicación del virus en el interior de la célula<sup>219</sup>.

Ante una infección vírica, las células CD8 responden de manera llamativa proliferando de forma muy importante durante la llamada *fase de expansión*, pero éstas son células simplemente efectoras. Una vez eliminado el patógeno se produce la *fase de*

*contracción* en la que mueren aproximadamente un 90-95% de esas células CD8. A medida que va transcurriendo el tiempo post-infección se entra en la *fase de mantenimiento* en la que inicialmente se forma un pool temprano células de memoria que se va transformando en un pool tardío con células que se autorenewan con memoria frente a ese virus<sup>220</sup>. A nivel experimental se ha demostrado que cuando se asocia rapamicina en la *fase de expansión* aumenta de manera muy importante la cantidad de células CD8 de memoria; cuando se asocia durante la *fase de contracción*, aumenta la calidad; y cuando se asocia antes y después, se consigue un aumento importante tanto en la cantidad como en la calidad de células CD8 de memoria. De esta manera, hoy en día los i-mTOR se están utilizando asociados a vacunas para mejorar la respuesta y la memoria frente a virus<sup>218</sup>.

Los virus son causa importante de infecciones en el trasplante de órganos sólidos. Las propiedades antivirales de i-mTOR se han atribuido a una variedad de mecanismos y datos históricos han respaldado su uso beneficioso cuando se comparan con otros inmunosupresores en una gran variedad de infecciones víricas. Los i-mTOR desempeñan un papel claro en el manejo del citomegalovirus y hay datos que apoyan su uso potencial para el virus BK y el sarcoma de Kaposi relacionado con el herpesvirus humano 8. No hay datos que respalden definitivamente el uso de i-mTOR en el trastorno linfoproliferativo postrasplante mediado por el virus de Epstein-Barr o en la replicación viral del virus de la hepatitis C<sup>221</sup>.

El **citomegalovirus (CMV)** es un virus muy difícil de erradicar y uno de los mecanismos que utiliza para producir daño es la producción de un análogo de IL-10. La IL-10 es un factor antiinflamatorio que disminuye la respuesta inflamatoria por parte del

huésped, la capacidad de defensa y la producción de citoquinas pro-inflamatorias como puede ser IL-12 y por lo tanto, de IFN- $\gamma$ <sup>222</sup>. La inhibición de la vía mTOR presenta ventajas ya que consigue aumentar la producción de citoquinas pro-inflamatorias (IL-12) y disminuir la producción de citoquinas anti-inflamatorias (IL-10), con lo cual logra compensar los mecanismos que CMV utiliza para evadir la respuesta del huésped<sup>219</sup>. A nivel experimental, Egli y col.<sup>223</sup> midieron la reactividad de las células T por la producción de IFN- $\gamma$  cuando se enfrentan al antígeno pp65 del CMV. Estos autores observaron que la producción de IFN- $\gamma$  frente al CMV disminuía aproximadamente en un 50% con niveles de TAC de 6 ng/mL; necesitándose dosis mucho más elevadas de CsA para ello. Sin embargo, el uso de SRL no afectaba a la producción de IFN- $\gamma$ .

A nivel clínico, Havenith y col.<sup>224</sup> realizaron un ensayo en pacientes tratados con basiliximab, CsA, MMF y prednisona que fueron randomizados a los 6 meses para mantenerse en doble terapia; todos ellos con prednisona, una rama con CsA, otra con EVE y otra con MMF. Se estudiaron las células T CD8+ específicas anti-CMV pretrasplante y a los 6 meses antes de la randomización, siendo iguales en todas las ramas. Tras la randomización, el grupo tratado con EVE aumentó de manera muy llamativa las células T CD8+ específicas frente a CMV. También aumentaron, aunque en menor proporción, en el grupo que de MMF, mientras que en el grupo que se mantuvo con el ICN no se consiguió ningún incremento de estas células<sup>223</sup>.

Los i-mTOR reducen la incidencia, la severidad y la recurrencia de infección por CMV en el periodo postrasplante<sup>218 225</sup>. Además de que la conversión de CsA a EVE produzca un aumento en la producción de células T CD8+ específicas para CMV, también

es capaz de bloquear la vía de la PI3K, la cual es crucial para que se lleve a cabo la replicación del CMV<sup>223</sup>.

El estudio de Andrassy y col.<sup>226</sup> llevó a cabo una revisión sistemática analizando sobre un importante número de ensayos clínicos la incidencia de patología por CMV y si los pacientes habían recibido tratamiento con i-mTOR vs ICN. El análisis demostró que el riesgo de presentar infección por CMV es mayor cuando los pacientes están en tratamiento con ICN en comparación con los pacientes en tratamiento con i-mTOR sólo. Incluso al comparar la combinación i-mTOR más ICN, frente a ICN sólo, también el riesgo de infección por CMV fue mayor con el ICN sin i-mTOR<sup>225</sup>. Por último, Tedesco-Silva y col.<sup>227</sup> realizaron un estudio unicentro, prospectivo y randomizado con 288 pacientes sin profilaxis para infección por CMV (ni siquiera los pacientes de alto riesgo de infección: IgG CMV donante positivo/IgG CMV receptor negativo), mostrando que el uso combinado de EVE-TAC en pacientes con riesgo inmunológico bajo/moderado, junto con inducción con basiliximab o dosis bajas de timoglobulina (3 mg/kg), se asoció con una menor incidencia de infección/enfermedad por CMV que el grupo que se indujo con basiliximab y terapia convencional TAC-MMF <sup>226 228</sup>. Por lo tanto, las recomendaciones del uso de i-mTOR en la infección por CMV en el trasplante de órgano sólido parecen claras<sup>218 220 227</sup>: 1. Cuando se utiliza i-mTOR *de novo* (combinado ó no con ICN) se reduce tanto la incidencia de infección/enfermedad por CMV, que es posible que se pueda prescindir de la profilaxis universal para el CMV, y realizar terapia anticipada cuando fuera preciso; 2. Cuando se utiliza terapia de inducción con inmunoglobulina anti timocítica, se postula con una evidencia científica elevada, que es posible prescindir de profilaxis universal con valganciclovir, siempre que se utilice i-mTOR *de novo*. 3. En

los casos de alto riesgo de infección por CMV (IgG CMV donante positivo para un IgG CMV receptor negativo) se recomienda utilizar i-mTOR *de novo*, aunque la profilaxis universal con valganciclovir en estos casos también se aconseja por el momento hasta disponer de más datos.

El **virus BK (BKV)**, perteneciente a la familia de los poliomavirus, es un patógeno muy común en la población en general que puede producir infecciones relevantes en el postrasplante renal<sup>229 230</sup>. La infección primaria suele ocurrir en la primera década de la vida y tras ella el virus coloniza el tracto urinario y queda en latencia en las células renales. Cuando se produce disminución de la inmunidad, el virus empieza a replicarse en las células epiteliales del riñón, uréter y vejiga. El uso creciente de terapia inmunosupresora de mantenimiento más potente ha hecho que la incidencia de esta infección haya aumentado drásticamente en los últimos años<sup>231</sup>. El 50% de los pacientes trasplantados renales que presentan viremia lo hacen en los dos primeros meses post-trasplante y el 95% en los dos primeros años<sup>229</sup>. Esta reactivación tan temprana en el trasplante se relaciona con diferentes factores como la intensidad de la inmunosupresión, lesiones tubulares secundarias a isquemia reperusión, trauma quirúrgico, etc. Se ha descrito que la aparición de nefropatía por BK se correlaciona con dosis y niveles altos de TAC<sup>232 233</sup>, e incluso solo con su uso cuando se compara frente a CsA<sup>234</sup>, uso de ácido micofenólico<sup>229</sup>, inducción con globulinas antitimocíticas<sup>232 235</sup> y tratamiento del rechazo. Hasta ahora, la única estrategia terapéutica eficaz contra el BKV pasa por disminuir la inmunosupresión<sup>231</sup>. La mayoría de las estrategias adoptadas en un primer tiempo fueron a base de reducir la dosis de MMF, con lo cual se lograba reducir la viremia persistente por BKV pero a un alto coste: la elevada exposición a sufrir

un rechazo agudo<sup>236</sup>. Al BKV le sucede lo mismo que al CMV, son virus que no poseen DNA-polimerasa, por lo que dependen del huésped para su replicación<sup>237</sup>. El BKV activa las vías de señalización intracelular del huésped, incluyendo la vía mTOR, para iniciar así la replicación de su DNA<sup>236</sup>. Los fármacos i-mTOR obviamente bloquean la vía mTOR y además, reducen la expresión del antígeno T del BKV (que es el responsable del inicio del ciclo celular virus en el huésped<sup>238</sup>). *in vitro* de una forma dosis dependiente<sup>236</sup>. Además, i-mTOR permite el desarrollo de células T CD8+ específicas de BK<sup>239</sup>. En el mismo estudio de Egli y col. citado anteriormente<sup>223</sup>, se demostró que cuando se enfrentaban las células al antígeno LT del virus BK, con concentraciones habituales de TAC (6 ng/mL) disminuía la capacidad de respuesta en la producción de IFN $\gamma$  a tan solo un 20%, necesitándose dosis mucho más elevadas de CsA para disminuir esa producción de IFN $\gamma$ , mientras que con SRL prácticamente no se modificaba.

Como hemos dicho anteriormente, en la infección por virus BK lo más importante es reducir la inmunosupresión<sup>231</sup>, pero no existe una pauta suficientemente clara. Hay autores que recomiendan suspender o reducir las dosis de antimetabolitos<sup>240</sup>, disminuir los ICN<sup>241 242 243</sup>, o realizar ambas aproximaciones<sup>244 245</sup>. También se postula la conversión de ICN a i-mTOR<sup>246 247 248 249</sup> o cambio de TAC por CsA<sup>240</sup>, pero realmente no existe un ensayo clínico randomizado en el que se comparen adecuadamente estas diferentes actitudes terapéuticas. El grupo del hospital Clínico San Carlos de Madrid publicó una serie de 15 trasplantados renales con infección por BKV<sup>246</sup>: a 8 se les redujo la inmunosupresión (7 de ellos además recibieron tratamiento con cidofovir y 6 recibieron inmunoglobulina inespecífica intravenosa) y a 7 se les convirtió a i-mTOR (SRL o EVE, con suspensión bien del ICN, bien del antimetabolito). Los pacientes convertidos



a i-mTOR experimentaron una disminución más rápida de la viremia y una mejoría de la función renal sin episodios de rechazo agudo<sup>246</sup>. Hasta la fecha solo se han publicado cinco ensayos clínicos randomizados: dos de ellos utilizando quinolonas<sup>250 251</sup>, dos con diferentes pautas inmunosupresoras para prevenir la infección<sup>232 253</sup> y uno para el tratamiento de la nefropatía por BKV<sup>252</sup>. Los ensayos utilizando levofloxacin tanto para prevenir el desarrollo de nefropatía por BKV en el post-trasplante<sup>250</sup> como para tratar pacientes con viremia positiva<sup>251</sup> no han mostrado efectos beneficiosos del fármaco. Un ensayo clínico de pacientes diagnosticados de nefropatía por BKV por biopsia, randomizó a seguir con tratamiento estándar o a recibir FK778<sup>252</sup>, y mostró que con este fármaco se conseguía disminuir la carga viral, pero no una mejoría en la función renal, probablemente debido a una mayor incidencia en rechazo. Dentro de los ensayos con diferentes pautas inmunosupresoras para prevenir la infección por BK, el primero de ellos fue realizado por Brennan y col.<sup>232</sup>, donde randomizaron 200 pacientes trasplantados *de novo* a ser tratados con TAC (n=134) o CsA (n=66), dejando a elección del investigador el tipo de antimetabolito. Aunque no encontraron diferencias globales en la incidencia de viremia y viruria cuando compararon ambos grupos, si apreciaron mayor viruria cuando los pacientes recibieron tratamiento con TAC y MMF (46%) vs CsA y MMF (13%)<sup>232</sup>. Recientemente se han publicado datos de un ensayo clínico multicéntrico abierto y randomizado danés<sup>253</sup>, en el que 224 trasplantes renales *de novo* fueron randomizados al sexto mes en tres ramas: MPA, CsA o EVE, asociadas las tres a prednisona. A partir de los 6 meses, la incidencia de viruria BK en el grupo de MPA fue significativamente mayor que en los otros grupos (43,6% vs 16,9% con CsA y 19,8% con EVE; p=0,003). No hubo diferencias entre los tres grupos en el porcentaje de pacientes

con viremia positiva. Se diagnosticó nefropatía por BKV en 3 pacientes, todos tratados con MPA (7,8%;  $p=0,001$ ). El análisis de datos longitudinales mostró una menor viremia de BK y un aclaramiento significativamente más rápido de la viruria de BK en el grupo de CsA en comparación con el grupo de MPA ( $p=0,03$ )<sup>253</sup>. En este mismo sentido, se ha publicado también en el 2017 los datos de un estudio prospectivo, randomizado, unicentro y no ciego, en el que se randomizaron 40 pacientes trasplantados renales con terapia basada en TAC, MMF y esteroides que habían desarrollado viremia por BK o viruria  $>10^6$  copias/mL; se les randomizó a dos ramas: retirada de MMF y conversión a EVE vs reducción de un 50% de la dosis de MMF. El objetivo primario del ensayo fue una reducción de la viruria en  $>50\%$  o desaparición de la viremia a los 3 meses postrandomización. La conversión a EVE suspendiendo el MMF mostró una tendencia mayor a la desaparición del virus, pero los resultados no fueron estadísticamente significativos<sup>236</sup>.

Además, hay publicados datos de diferentes ensayos clínicos en los que su objetivo primario no ha sido estudiar la infección por BK, pero que sí han dado datos sobre su incidencia en la población randomizada. Aunque esto tienen limitaciones importantes, estos datos sustentan la capacidad antiviral de i-mTOR frente al BKV. Así, algunos realizados con EVE objetivan una menor incidencia de infección por BK<sup>254 255 256</sup>. La combinación EVE-dosis reducidas de CsA se asocia con un riesgo de infección por virus BK más bajo que el tratamiento estándar ICN-MMF<sup>254 255 256</sup>. Paralelamente, datos de análisis de la base UNOS<sup>257</sup> mostraron que el uso de i-mTOR está asociado con una reducción del 30% en el riesgo de desarrollar nefropatía por BK. Sin embargo, un

reciente metaanálisis de ensayos clínicos comparando regímenes basados en i-mTOR frente a ICN no ha mostrado efecto protector a favor de los primeros<sup>258</sup>.

Hasta que se publiquen los datos de nuevos ensayos clínicos que están en marcha, la recomendación de expertos de las guías KDIGO es reducir la inmunosupresión, cuando la viremia exceda el umbral de  $10^3$  copias/mL<sup>259</sup>. El cambio a i-mTOR en el contexto de minimizar inmunosupresión se debería considerar en pacientes con viremia, viruria o nefropatía por BK<sup>219</sup>.

El **virus de Epstein-Barr (VEB)** es un herpesvirus gamma asociado con enfermedades que van desde la viremia asintomática hasta las neoplasias malignas postrasplante en receptores de trasplante renal. El VEB se asocia específicamente con el trastorno linfoproliferativo postrasplante (PTLD) en los receptores de trasplante de riñón, con un mayor riesgo en pacientes seronegativos para VEB con donantes seropositivos para VEB<sup>219 260</sup>. Las estrategias terapéuticas para la PTLD incluyen la reducción de la inmunosupresión, la quimioterapia y el rituximab; la radioterapia o cirugía está indicada para enfermedades voluminosas, diseminadas o recalcitrantes<sup>260</sup>. No existe consenso sobre la indicación de conversión a i-mTOR, por datos contradictorios en la literatura<sup>219 261 262</sup>. En cuanto a la inmunosupresión, la combinación CsA con MMF o con i-mTOR, presenta un riesgo de PTLD más bajo que la combinación TAC con MMF en algunos registros; sin embargo, en la serie publicada por Sampaio y col.<sup>262</sup> en receptores VEB negativos, la asociación de i-mTOR con TAC se asoció con un incremento del riesgo de PTLD. Hasta el momento, el uso de i-mTOR *de novo* no previene la aparición de PTLD-asociada al VEB, pero la conversión a i-mTOR en pacientes

diagnosticados de PTLD asociada a VEB podría mejorar la supervivencia de estos pacientes<sup>219</sup>.

La infección por el **virus herpes 8 (VH-8)** en pacientes trasplantados se asocia frecuentemente con neoplasias como el sarcoma de Kaposi (SK), la cual se manifiesta en forma de lesiones muco-cutáneas con diseminación visceral incluyendo el órgano trasplantado. A diferencia de la mayoría de herpesvirus, su prevalencia varía dependiendo de la región geográfica, encontrando la mayor seroprevalencia en algunas regiones de África (50%). Aunque no existen muchas publicaciones al respecto en los últimos años, existen 2 publicaciones clave que evalúan el papel de i-mTOR en receptores de trasplante renal con SK mediado por VH-8. Stallone y col.<sup>263</sup> y Yaich y col.<sup>264</sup> describieron que la conversión de ICN + MMF a SRL en monoterapia de 15 y 10 pacientes trasplantados renales, respectivamente, con SK, llevó a la resolución completa del SK. Aunque se trata de series muy cortas, la contundencia de los datos ha llevado a considerar la conversión a i-mTOR como tratamiento de elección en el SK<sup>219 221</sup>.

## 1.6 COMBINACIÓN DE I-MTOR CON ICN

Desde los inicios de la utilización de SRL en la práctica clínica, la principal aspiración fue que SRL ofreciera una alternativa a los ICN y evitara de esta forma las consecuencias adversas de los ICN sobre la función renal. Sin embargo, con el tiempo se hizo evidente que para la mayoría de los pacientes SRL no ofrecía una inmunosupresión comparable a la de los ICN, y que el perfil de efectos secundarios era complejo y de difícil manejo<sup>126 207</sup>. Poco a poco, el papel de SRL se vio más restringido utilizándose sólo en pacientes donde el uso de ICN comprometiera la función del injerto, en pacientes con

enfermedad maligna o alto riesgo de la misma, y en pacientes con infección ó alto riesgo de infección viral por CMV ó por BKV. En estos pacientes que toleraban bien SRL se observaron ventajas respecto a la función renal del injerto a largo plazo, a un mejor control de la tensión arterial y a un riesgo reducido de infecciones víricas y de malignidad<sup>209 265 266</sup>.

Durante muchos años se han publicado diversos estudios para valorar el efecto de la combinación de ICN con i-mTOR, pudiendo concluir dos mensajes fundamentales. El primero, es que cuando se utilizaban dosis plenas de CsA con SRL o EVE se producía nefrotoxicidad, aunque la eficacia en cuanto a prevención de rechazo era buena<sup>101 103 122</sup>. El segundo es que la combinación de CsA (minimizando la dosis de ésta) con EVE producía un efecto sinérgico, manteniendo una buena función del injerto a los 2 años<sup>267 268 269</sup>. La creencia más extendida en la comunidad trasplantadora es que la combinación de EVE con dosis reducidas de CsA consigue una buena función renal, y que, por el contrario, cuando se ha intentado combinar con SRL ha sido necesaria la suspensión de CsA por nefrotoxicidad. Sin embargo, Tedesco-Silva y col.<sup>265</sup> revisaron los resultados del uso clínico de SRL durante 15 años en su centro de trasplante (probablemente el que más trasplantes renales realice en el mundo). En la mayoría de los casos eran receptores de trasplante de riñón *de novo*, utilizando SRL en combinación con ICN. También exploraron estrategias de minimización de ICN y de eliminación o conversión de ICN en combinación con MMF/MPA. Los resultados que encontraron a largo plazo fueron comparables con los obtenidos con la combinación ICN y antimetabolito<sup>265</sup>.

Años antes, el estudio 2307 demostró que la combinación de EVE con dosis reducidas de CsA no era una combinación nefrotóxica<sup>268</sup>. En este ensayo clínico se

incluyeron pacientes trasplantados renales tratados con basiliximab y esteroides que fueron randomizados en 3 grupos: uno de ellos con MPA y dosis estándar de CsA, y otros dos grupos con dosis reducidas de CsA asociada con EVE en diferentes dosis (0,75 mg/12h o 1,50 mg/12h). En total se incluyeron aproximadamente 800 pacientes de los cuales completaron el estudio alrededor de 200 en cada brazo. Como estaba diseñado en el material y métodos, los pacientes que habían sido randomizados a recibir tratamiento con EVE tuvieron niveles más bajos de CsA que los pacientes tratados con CsA. Al primer mes, la reducción en las dosis del grupo con EVE estaba en torno a un 30% si se comparaba con el grupo tratado con MMF, y al año la reducción se cifraba en torno a un 60%. Uno de los hallazgos más interesantes del estudio fue que pese a utilizar dosis bajas de CsA, no hubo un incremento en la tasa de rechazo agudo; incluso los pacientes en el brazo de MPA con dosis plenas de CsA presentaron más rechazo agudo, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. En los tres grupos los rechazos fueron muy leves (la mayoría tipo I o tipo II) y la función renal al año fue comparable en todos los grupos<sup>268</sup>.

Otro estudio interesante es el realizado por Kanzelmeyer y col.<sup>269</sup> en trasplantes pediátricos, en el cual se realizaron biopsias de protocolo al sexto mes y se compararon dos cohortes. En la primera, del año 2002 al 2006, se utilizó tratamiento con CsA o TAC a dosis plenas asociado a MMF/MPA y prednisona, y a partir del año 2006 (la segunda cohorte) se introdujo EVE en la inmunosupresión, asociado a dosis bajas de CsA. En las biopsias de protocolo al sexto mes, los autores observaron que la incidencia de rechazo subclínico era de 0% en el grupo de dosis reducidas de CsA y EVE vs un 20% en el grupo

de ICN a dosis plenas y MMF/MPA, encontrando también una menor incidencia de FI/AT (15% vs 43%)<sup>269</sup>.

El ensayo de Langer y col.<sup>107</sup> incluyó pacientes trasplantados renales tratados con TAC, EVE, basiliximab y prednisona que al cuarto mes fueron randomizados en dos grupos: un grupo en mantenimiento con niveles bajos de TAC (1,5-3 ng/mL) y el grupo control con niveles estándar de TAC (4-7 ng/mL). Aunque no se alcanzaron niveles de TAC tan bajos como se pretendía inicialmente, en el brazo de niveles bajos se situaron <4 ng/mL en todo el grupo, con una media de 3,5 ng/mL. Un interesante resultado fue que post-randomización, el grupo en el que se utilizaron dosis más bajas de TAC no presentó una tasa de rechazo superior al grupo en el que se mantuvieron dosis más habituales de TAC<sup>107</sup>.

En cuanto a la formación de Acs antiHLA, no parece que los i-mTOR en combinación con ICN puedan disminuir ó aumentar la formación de los mismos, en comparación con la clásica terapia ICN junto con MMF/MPA. Mithani y col.<sup>270</sup> compararon de forma retrospectiva 66 trasplantados en terapia con TAC, i-mTOR y prednisona con 132 pacientes trasplantados bajo terapia inmunosupresora consistente en TAC, MMF y prednisona. No se encontraron diferencias ni en la formación de ADEs, ni en el tipo de anticuerpos (clase I y clase II) ni en su intensidad (MFI), al 1 mes, a los 6 meses y a los 12 meses; tampoco hubo diferencias en FG, proteinuria ó rechazo agudo<sup>270</sup>.

El estudio TRANSFORM<sup>228</sup> es el mayor ensayo aleatorizado, multicéntrico y abierto realizado hasta la fecha, con 2037 pacientes de 42 países del mundo. En él se incluyeron trasplantes renales *de novo* que fueron aleatorizados a dos pautas

inmunosupresoras: EVE+exposición reducida a un ICN ó bien MPA+exposición estándar a un ICN, junto con tratamiento de inducción (basiliximab/timoglobulina) y esteroides. La duración del estudio fue de 24 meses. El análisis realizado a los 12 meses y a los 24 meses mostró que la pauta basada en EVE-ICN no era inferior al régimen habitualmente utilizado de inmunosupresión (ICN-MPA), tanto en eficacia como en seguridad. No se objetivaron diferencias significativas en incidencia de BPAR o porcentaje de pacientes con  $eGFR < 50 \text{ mL/min/1,73m}^2$ . Tampoco lo fue en la variable secundaria del estudio compuesta por BPAR, pérdida del injerto o muerte. La  $eGFR$  media se mantuvo estable a lo largo del estudio en ambos grupos de tratamiento, y además fue similar en los distintos tipos de donantes (donante vivo, donante en muerte cerebral y donantes en asistolia). En cuanto a seguridad, el estudio TRANSFORM<sup>228</sup> demostró una incidencia comparable de episodios adversos en los dos grupos; la incidencia de las infecciones totales (infecciones bacterianas y víricas, como CMV y BKV) en el grupo de EVE-ICN fue significativamente menor que en el grupo de MPA-ICN ( $p < 0,001$ ). Por último, la incidencia menor de acontecimientos por CMV con EVE-ICN fue independiente del estado serológico basal y la profilaxis, lo que confirma los beneficios antivíricos de EVE cuando se introduce precozmente<sup>228</sup>.

Todos estos estudios muestran cómo EVE ha permitido la utilización de dosis bajas de ICN sin incrementar el riesgo de rechazo. Por lo tanto, esta combinación parece segura en el corto plazo. La posible toxicidad sinérgica a largo plazo no puede conocerse en la actualidad ya que los ensayos clínicos no van más allá de 2-5 años y no se dispone de la información necesaria.



## **2 HIPÓTESIS DE PARTIDA**

Tras el primer año de trasplante los resultados a largo plazo no han experimentado mejoría, perdiéndose los injertos renales fundamentalmente por disfunción crónica del injerto y por muerte del paciente con injerto funcionando, bien de origen cardiovascular o por neoplasias malignas. Los inhibidores de la calcineurina son los fármacos inmunosupresores clásicamente utilizados por su importante potencia inmunosupresora, pero no exentos de efectos perjudiciales favorecen el riesgo cardiovascular, la nefrotoxicidad, las infecciones por virus oncogénicos y la pérdida de vigilancia inmune, factores todos ellos implicados en la pérdida del injerto a largo plazo.

Por el contrario, los fármacos i-mTOR, por sus propiedades antiproliferativas y antitumorales, pueden disminuir la incidencia de disfunción crónica del injerto, mejorar el perfil cardiovascular, frenar la replicación de algunos virus y disminuir la aparición de algunas neoplasias, consiguiendo con ello (en teoría) una mejoría de los resultados del trasplante a largo plazo. Su utilización en terapia de conversión es complicada por la dificultad en el manejo de sus efectos adversos y por su menor capacidad inmunosupresora, por lo que es importante conocer qué pacientes tienen un perfil favorable para una conversión exitosa.

Hasta la fecha no está claramente establecido qué pacientes se pueden beneficiar más claramente de una conversión a i-mTOR. Nuestra hipótesis es que una adecuada selección de pacientes (centrada en aquéllos que mayores posibilidades de beneficio tienen) se traducirá en una mejora de los resultados a medio-largo plazo. Para ello, nos planteamos los siguientes objetivos:



### **3 OBJETIVOS**

El objetivo principal de este trabajo ha sido discernir qué pacientes trasplantados renales se pueden beneficiar de la conversión a i-mTOR en términos de función renal.

Otros objetivos secundarios fueron:

1. Estudiar la evolución de la función renal y de la proteinuria pre- y post-utilización de i-mTOR, según las diferentes causas de conversión.
2. Encontrar factores predictivos para pérdida del injerto y muerte del paciente.
3. Encontrar factores predictivos para muerte del paciente
4. Analizar la respuesta de las infecciones víricas a la conversión a i-mTOR.
5. Describir los efectos adversos de estos fármacos que puedan llevar a la suspensión de los mismos.
6. Analizar la variabilidad de los i-mTOR y su relación con la supervivencia del injerto.



## **4 MATERIAL Y MÉTODOS**

### **4.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.**

Se trata de un estudio observacional de cohortes a partir de una base de datos de los pacientes trasplantados renales convertidos a fármacos i-mTOR, durante el período 1999-2015, en dos centros: el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander y el Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Ambos hospitales comenzaron a trabajar conjuntamente en el uso de estos fármacos desde su introducción en nuestro país, siendo las pautas e indicaciones de conversión homogéneas entre ambos.

El estudio fue aprobado por los comités éticos del hospital y realizado de acuerdo con las Guías de Buena Práctica Clínica y los preceptos elaborados en la Declaración de Helsinki (MRC 1998) sobre los principios éticos para la investigación que involucra a seres humanos. Todos los pacientes fueron informados detalladamente de los objetivos del estudio y otorgaron su consentimiento informado de forma escrita y/o verbal.

Se incluyeron 637 pacientes convertidos a imTOR (317 con sirolimus y 320 con everolimus). Se definieron los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes mayores de 18 años que recibieron un trasplante renal en nuestras unidades durante el periodo de estudio.
- Que hubieran otorgado su consentimiento informado de forma escrita o de forma verbal y éste figure por escrito en la historia clínica del paciente.

## 4.2 BASE DE DATOS

Para la recogida de datos, se diseñó una base de datos específica en ACCESS. Los datos correspondientes al año 1999 se obtuvieron de forma retrospectiva y a partir de 2000 de forma prospectiva.

La población analizada corresponde a población del norte y centro de España puesto que en muchos de estos años de “reclutamiento” de pacientes, el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla de Santander era referencia para el trasplante renal en gran parte de Castilla y León y La Rioja, y el Hospital Clínico San Carlos de Madrid lo era para gran parte de Castilla La Mancha y Extremadura.

Tras la obtención del consentimiento informado de los pacientes, en la base de datos se incluyeron las siguientes variables:

- A) Datos clínicos: edad, sexo, peso, tensión arterial, etiología de la insuficiencia renal crónica, fecha de trasplante, tipo de donante, edad del donante, primer trasplante o retrasplante.
- B) Tratamiento inmunosupresor:
  - 1) i-mTOR:
  - 2) Fecha de inicio
  - 3) Causas de conversión
  - 4) Suspensión (sí/no)
  - 5) Fecha de suspensión y motivo de la misma
  - 6) Tratamiento inmunosupresor concomitante
    - a) Tipo y dosis diaria
    - b) Suspensión de ICN (sí/no)
    - c) Fecha de suspensión de ICN
- C) Evolución:
  - 1) Aparición de rechazo (sí/no) y características del mismo.
  - 2) Pérdida del injerto (sí/no)
  - 3) Fecha de pérdida

- 4) Causa de pérdida
  - 5) Muerte del paciente (sí/no)
  - 6) Fecha de muerte
  - 7) Causa de muerte
- D) Datos analíticos: Se recogieron los datos analíticos previos a la introducción del fármaco en el caso de conversión (12, 6 y 3 meses antes) y los mismos datos analíticos posteriores al uso del mismo durante un periodo de 5 años (en la primera y segunda semana del inicio de i-mTOR, en los meses 1, 2, 3, 6, 9, 12 y 18, y a los 2, 3, 4 y 5 años). Las variables incluídas fueron:
- 1) Hemograma: hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas
  - 2) Ferritina, sideremia, saturación de transferrina y capacidad de fijación.
  - 3) Función renal con creatinina plasmática y urinaria, diuresis en 24 horas, proteinuria y cociente PRO/CRO.
  - 4) Metabolismo hidrocarbonado con glucosa plasmática y HbA1c.
  - 5) Metabolismo lipídico con colesterol total, HDL-colesterol, triglicéridos y LDL-colesterol.
  - 6) Niveles plasmáticos de los fármacos inmunosupresores.
- E) Tratamientos asociados (en los mismos tiempos que los datos analíticos):
- 1) Número de hipotensores que el paciente está recibiendo, especificando si toma o no IECA/ARA-II.
  - 2) Hipolipemiantes (tipos y dosis): estatinas, ezetimibe, estatinas combinadas con ezetimibe u otros hipolipemiantes.
  - 3) Uso de agentes estimuladores de la eritropoyesis (tipo y dosis semanal).
  - 4) Insulina y/o antidiabéticos orales.

En caso de suspensión de la administración del fármaco i-mTOR durante el período de seguimiento, se registraron adicionalmente la fecha y la causa de la suspensión, así como los datos analíticos del día de la suspensión, y los correspondientes a los 3 y 6 meses posteriores a la misma.

### 4.3 VARIABLES ESTUDIADAS

Para la realización de esta tesis doctoral se han analizado las siguientes variables de la base de datos.

---

#### 4.3.1 Variables independientes

Se enumeran a continuación:

- A) Datos clínicos: edad, sexo, peso, tensión arterial, etiología de la insuficiencia renal crónica, fecha de trasplante, tipo de donante, edad del donante, primer trasplante o retrasplante.
- B) Tratamiento inmunosupresor:
  - 1) i-mTOR:
    - a) Fecha de inicio
    - b) Causa de conversión
    - c) Suspensión (sí/no)
    - d) Fecha de suspensión y motivo de la misma
  - 2) Tratamiento inmunosupresor concomitante
    - a) Tipo y dosis diaria
    - b) Suspensión de ICN (sí/no)
    - c) Fecha de suspensión de ICN
- C) Evolución
  - 1) Aparición de rechazo (sí/no) y características del mismo.
  - 2) Pérdida del injerto (sí/no)
  - 3) Fecha de pérdida
  - 4) Causa de pérdida
  - 5) Muerte del paciente (sí/no)
  - 6) Fecha de muerte
  - 7) Causa de muerte
- D) Datos analíticos: las variables estudiadas para la realización de esta tesis fueron:
  - 1) Hemograma: hemoglobina, hematocrito, leucocitos y plaquetas
  - 2) Función renal con creatinina plasmática y urinaria, diuresis en 24 horas, proteinuria y cociente PRO/CRO.
  - 3) Metabolismo lipídico con colesterol total, HDL-colesterol, triglicéridos y LDL-colesterol.
  - 4) Niveles plasmáticos de los fármacos inmunosupresores.
- E) Tratamientos asociados (en los mismos tiempos que los datos analíticos):
  - 1) Número de hipotensores que el paciente está recibiendo, especificando si toma o no IECA/ARA-II.



- 2) Hipolipemiantes (tipos y dosis): estatinas, ezetimibe, estatinas combinadas con ezetimibe u otros hipolipemiantes.
- 3) Uso de agentes estimuladores de la eritropoyesis (tipo y dosis semanal).

---

#### **4.3.2 Variables dependientes**

Fueron las siguientes:

##### **1. Mejoría de la función renal al año.**

Para estudiar la mejoría de la función renal al año, analizamos las diferencias entre el filtrado glomerular estimado por la fórmula CKD-EPI basal y al año entre aquellos pacientes que habían mantenido el tratamiento con i-mTOR durante al menos un año. Con el fin de valorar el impacto que pudiera tener la función renal previa a la conversión (3 meses antes de la conversión) tan solo se incluyeron en el análisis los pacientes hubieran sido convertidos a partir del sexto mes postrasplante, asumiendo que la función renal permanece estable a partir de los 3 meses post-trasplante. Un 33% de los pacientes habían mejorado en 5 mL/min, punto que fue considerado para el análisis.

##### **2. Variabilidad de niveles de i-mTOR**

Se analizó el coeficiente de variabilidad (CV) utilizando al menos 3 niveles valle de i-mTOR en sangre entre el mes 3º y el mes 18º tras la conversión (en una fase estable de la conversión) y en pacientes con situación clínica estable. Para evitar el sesgo de métodos de determinación de niveles sanguíneos de inmunosupresores, se analizaron pacientes trasplantados renales convertidos a i-mTOR entre Enero de 2009 y Diciembre de 2015. Los pacientes se dividieron en terciles según el valor de la variabilidad de los niveles en sangre de i-mTOR

3. Pérdida del injerto. Se definió pérdida del injerto como reinicio de diálisis, retrasplante o muerte con injerto no funcionante.

4. Muerte del paciente.

#### **4.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Las variables categóricas se expresan con su distribución de frecuencias. Las variables cuantitativas se reflejan como media y desviación estándar (DE) o mediana e intervalo intercuartílico (RIC), según sigan o no una distribución normal.

Se analizó el comportamiento de las variables cuantitativas por cada una de las variables independientes categorizadas mediante el test de la t de Student (en comparaciones de una variable con dos categorías). En caso de asimetría se utilizaron test no paramétricos, como el test de la mediana.

Se evaluó la asociación entre variables cualitativas con el test de  $\chi^2$  o prueba exacta de Fisher, en caso de que más de un 25% de los esperados fueran menores de 5. En variables ordinales se contrastó la hipótesis de tendencia ordinal de proporciones.

Se ajustaron modelos de regresión logística (mejoría de la función renal) con el objeto de evaluar la asociación de aquellas variables que en análisis crudo el resultado de la p del contraste fuera inferior a 0,15 o se tratara de variables biológicamente relevantes. Este modelo permitió identificar la relación entre un conjunto de variables explicativas y la probabilidad del evento, de las complicaciones más frecuentes, de las variables estudiadas. Se presentaron las “odds ratios” o razones de ventaja como estimador del riesgo relativo con su intervalo de confianza al 95%.

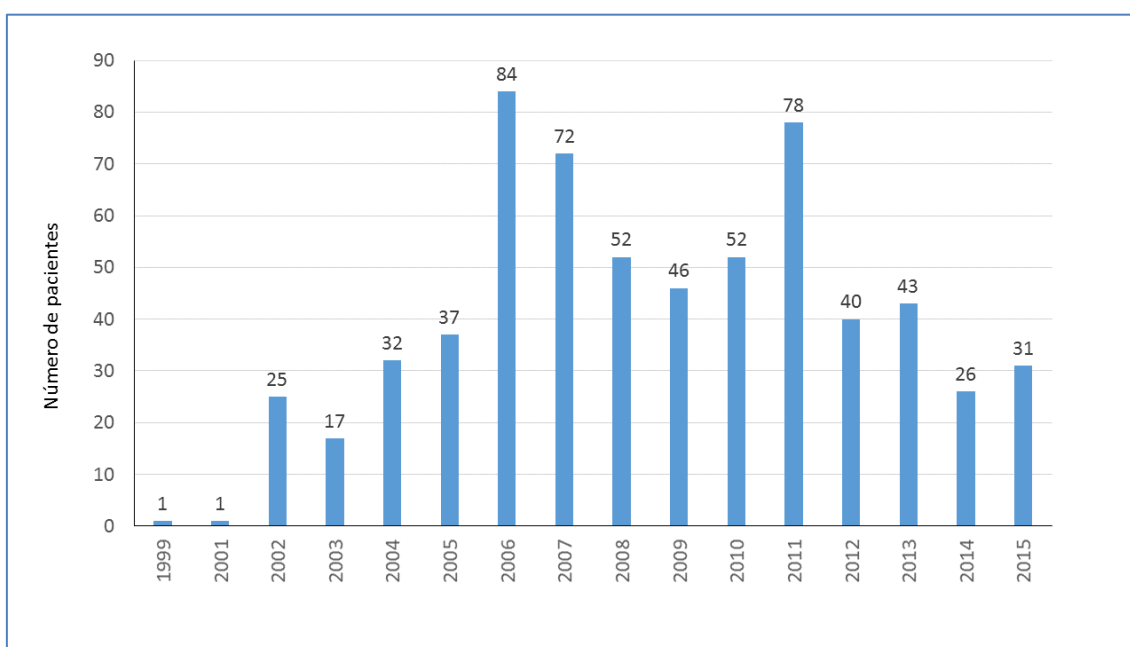
Para el análisis de pérdida del injerto y muerte del paciente, se estimaron funciones de supervivencia mediante el método actuarial (tabla de vida), presentándose las gráficas de las curvas estimadas. La comparación por subgrupos se llevó a cabo mediante la prueba de Mantel-Cox (logrank test) o la prueba de Breslow en caso de detectarse un elevado número de eventos al inicio de la curva. Se evaluó la existencia de interacciones, introduciendo las variables independientes multiplicativas con pruebas de significación estadística y se mantuvieron en el modelo los términos de interacción estadísticamente significativos. Se presentaron las “razones de tasas” (HR) ajustadas junto a sus intervalos de confianza al 95%. La interpretación de los parámetros del modelo con signos positivos indicaron un aumento de la tasa instantánea de riesgo, es decir, un peor pronóstico del sujeto para un valor alto de la variable x. Un parámetro con signo negativo indicó mejor pronóstico para un valor alto en la variable x. Los resultados se presentaron como razones de tasas ajustadas (HR) con sus respectivos intervalos de confianza al 95%.

En todos los contrastes de hipótesis se rechazó la hipótesis nula con un error de tipo I o error  $\alpha < 0,05$ . Los análisis se hicieron con el programa SPSS versión 20 (SPSS, Chicago, IL, EE. UU.).



## 5 RESULTADOS

Entre los años 1999 y 2015 se convirtieron 637 trasplantados renales a fármacos i-mTOR, 233 en el Hospital de Valdecilla y 414 en Hospital Clínico San Carlos. En 317 se utilizó sirolimus y en 320 everolimus. La mayoría de los enfermos fueron convertidos a i-mTOR durante los años 2006-2011 como puede observarse en la Figura 1.



**Figura 1. Número de pacientes convertidos anualmente a i-mTOR**

La edad media de los pacientes en el momento de la conversión fue de  $55,9 \pm 13,3$  años y el 67,2 % de los pacientes fueron varones. Las glomerulonefritis fueron la causa más frecuente de enfermedad renal crónica de base (32%) seguida de la de poliquistosis renal (16%) y de las nefropatías tubulointersticiales (15,2%) (Tabla 3).

El tiempo mediano desde el trasplante a la conversión fue de 50 meses (RIC 13,6-121,3 meses).

El filtrado glomerular estimado por CKD-EPI medio en el momento de la conversión fue de  $45,8 \pm 18,2$  mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. La mediana de la proteinuria basal fue 294 mg/día (RIC 156-523 mg/día). En el 84,9% de los casos eran primeros trasplantes. Respecto al tipo de donante, el 68,1% eran donantes en muerte cerebral con una edad media de  $58,2 \pm 7,8$  años, el 30,3% donantes en asistolia tipo II con una edad media de  $47,8 \pm 5,4$  años, y el 1,6% fueron donantes vivos (10 casos).

El 73,7% de los pacientes estaban en tratamiento inmunosupresor con tacrolimus y el 26,3% con ciclosporina, previo a la conversión. Como tratamiento inmunosupresor concomitante el 70,2% estaban con micofenolato y el 29,8% no estaban con ningún antiproliferativo coadyuvante. Un total de 59,2% estaban siendo tratados con prednisona. Sirolimus se introdujo a una dosis inicial de  $3,09 \pm 1,48$  mg/día, con unos niveles al 7º día de  $8,70 \pm 4,48$  ng/mL. El everolimus se introdujo a una dosis inicial de  $2,83 \pm 0,78$  mg/día, con unos niveles al 4º día de  $7,88 \pm 5,01$  ng/mL.

El tiempo mediano de seguimiento post-conversión fue de 75,9 meses (RIC 43,7-109,6 meses). La etiología de la enfermedad renal de base se describe en la Tabla 3.

**Tabla 3 Etiología de la enfermedad renal de base**

	N	Porcentaje (%)
Glomerulonefritis	204	32,0
Nefropatías Tubulointersticiales	97	15,2
Nefroangioesclerosis	39	6,1
Poliquistosis Renal	102	16,0
Diabetes Mellitus	51	8,0
Enfermedades Sistémicas	9	1,4
No Filiadas	40	6,3
Otras	95	14,9
TOTAL	637	100,0

## 5.1 INDICACIONES PARA LA CONVERSIÓN A I-MTOR

En la Tabla 4 podemos observar las indicaciones para la conversión a i-mTOR que se adoptaron en ambos centros trasplantadores, así como los tiempos medianos post-trasplante en los que se realizó. Teniendo en cuenta que algunos enfermos tuvieron dos causas de conversión simultáneas, la principal indicación para convertir a i-mTOR fueron los tumores en 264 pacientes (41,4%).

**Tabla 4. Indicaciones para la conversión a i-mTOR**

	N	Porcentaje (%)	Tiempo post-trasplante (meses) (mediana y RIC)	Edad a la conversión (años) (media y DE)
Tumor	264	41,4%	95,3 (38,0-158,5)	60,9 (12,0)
FI/AT	158	24,8%	70,4 (28,7-127,3)	51,3 (12,2)
Infecciones Víricas	91	14,3%	6,7 (4,4-27,4)	53,1 (13,8)
Estrategia Preventiva	52	8,2%	6,2 (3,6-25,6)	47,6 (14,3)
Enf. Cardiovascular	45	7,1%	38,5 (19,3-110,5)	60,6 (7,4)
Toxicidad ICN	31	4,9%	28,6 (10,5-87,0)	52,4 (15,2)
Intolerancia a MMF/MPA	15	2,4%	61,2 (11,2-87,6)	52,8 (13,0)
Otras	39	6,1%	25,3 (9,1-69,4)	52,0 (12,9)

La indicación más frecuente en este subgrupo fue la de tumores de órgano sólido (48,9%), seguida de tumores cutáneos no melanomas (37,5%), tumores hematológicos (8,7%), sarcoma de Kaposi en 9 casos (3,4%) y 4 casos de melanomas (1,5%) (Tabla 5).

La segunda causa de conversión fue la presencia de FI/AT en 158 pacientes trasplantados (24,8%). La tercera razón para convertirlos a i-mTOR fueron las infecciones víricas en 91 pacientes (14,3%); de estos en 65 casos fue por infección por BK (71,4%), en 19 (20,9%) por CMV, en un caso (1,1%) por CMV y BK y en 6 por otros virus (6,66%).

**Tabla 5. Tipo de Tumor**

	N	Porcentaje (%)
Tumores Órgano Sólido	129	48,9%
Tumores Cutáneos No Melanomas	99	37,5%
Tumores Hematológicos	23	8,7%
Sarcoma de Kaposi	9	3,4%
Melanoma	4	1,5%

En 52 pacientes (8,2%) se realizó el cambio a i-mTOR como estrategia preventiva. La presencia de enfermedad vascular severa y/o clínicamente relevante fue la causa de la conversión en 45 pacientes (7,1%). Finalmente, el ICN se cambió por i-mTOR por toxicidad atribuible al ICN en 31 pacientes (4,9%): en 23 pacientes por neurotoxicidad (74,2%), en 7 pacientes por nefrotoxicidad (22,6%) y 1 paciente por otro tipo de toxicidad (3,2%). Por intolerancia a micofenolato se tuvo que iniciar i-mTOR en 15 casos (2,4%). Por último, 39 pacientes (6,1%) se convirtieron a i-mTOR por otras causas.

La mayoría de los pacientes con infección viral correspondían al centro 2 (89 casos frente a 2 casos en el centro 1). Hemos analizado la respuesta en el centro con mayor número de casos, de ellos 64 pacientes presentaban infección por virus BK (uno



de ellos además asociada a infección por CMV, y 18 infección recidivante o enfermedad por CMV (uno de ellos asociado a infección por BK). En 2 casos se utilizó al ser enfermos de alto riesgo de infección por CMV (donante positivo, receptor negativo). De los 64 pacientes con infección por virus BK se consiguió remisión de la misma en 57 (89,1%). Cuatro de los siete pacientes en los que no se consiguió fueron sujetos que no toleraron el tratamiento con i-mTOR y hubo que suspenderlo. En todos, excepto en uno de los pacientes con infección recidivante o enfermedad por CMV se consiguió la curación.

## **5.2 ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LOS RESULTADOS TRAS LA CONVERSIÓN A I-MTOR**

### **5.2.1 Análisis de la Función Renal y Proteinuria en el grupo de pacientes *por intención de tratar*.**

En la siguiente tabla se dan los datos de evolución de la función renal estimada según la fórmula CKD-EPI en el grupo global por intención de tratar.

**Tabla 6. Evolución de la función renal por intención de tratar**

Tiempo	N	Media (DS) (mL/min)
1 año antes	459	46,61 (17,51)
6 meses antes	482	46,18 (17,60)
3 meses antes	544	45,67 (17,96)
Basal	637	45,75 (18,23)
1 mes post-conversión	588	48,43 (19,51)
2 meses post-conversión	511	48,32 (19,27)
3 meses post-conversión	553	47,40 (19,90)
6 meses post-conversión	546	47,69 (19,44)
9 meses post-conversión	503	46,82 (19,34)
1 año post-conversión	550	46,88 (19,12)
2 años post-conversión	459	45,80 (17,21)
3 años post-conversión	358	46,67 (20,30)

No hubo diferencias estadísticamente significativas al comparar la evolución de la función renal. Evaluamos también la función renal al año incluyendo a aquellos trasplantes que habían reiniciado hemodiálisis (dando un valor de aclaramiento de 8 mL/min), siendo las cifras medias en este punto 46,12 (19,68) mL/min sin diferencias estadísticamente significativas respecto al basal.

La evolución de la proteinuria fue la siguiente:

**Tabla 7. Evolución de la proteinuria *por intención de tratar***

Tiempo	N	Media (DS) (mL/min)
1 año antes	438	247 (115-506)
6 meses antes	466	252 (133-508)
3 meses antes	538	280 (144-551)
Basal	630	294 (156-523)
1 mes post-conversión	610	377 (202-701)
2 meses post-conversión	499	391 (207-737)
3 meses post-conversión	539	424 (207-756)
6 meses post-conversión	545	400 (220-803)
9 meses post-conversión	510	420 (202-810)
1 año post-conversión	550	414 (238-816)
2 años post-conversión	426	419 (208-694)
3 años post-conversión	358	394 (209-726)

En los pacientes convertidos a i-mTOR por presencia de FI/AT, el CKD-EPI medio 3 meses antes de la conversión fue de  $36,63 \text{ mL/min/1,73 m}^2 \pm 13,31$  y en el momento basal de  $34,32 \text{ mL/min/1,73 m}^2 \pm 13,53$  ( $p < 0,001$ ). Al año de la conversión el CKD-EPI fue de  $34,95 \text{ mL/min/1,73 m}^2 \pm 13,99$ , no siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0,658$ ). La proteinuria mediana basal fue de 444,40 mg/día y al año de 702,00 mg/día ( $p = 0,002$ ), no encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre la proteinuria 3 meses antes de la conversión y la basal ( $p = 0,719$ ).

Los pacientes convertidos por enfermedad vascular severa y/o clínicamente relevante presentaron un CKD-EPI 3 meses pre-conversión de  $49,00 \pm 17,02 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  que disminuyó en el momento de la conversión a  $46,2 \pm 15,86 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  ( $p = 0,023$ ) y mejoró al año a  $50,52 \pm 19,42 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  ( $p = 0,003$ ). En cuanto a la proteinuria en este grupo también se observó un aumento desde el momento basal (220 mg/día) hasta el año post-conversión (323 mg/día) que resultó

estadísticamente significativo ( $p=0,002$ ), no observando diferencias estadísticamente significativas entre la proteinuria 3 meses antes de la conversión y la basal ( $p=0,502$ ).

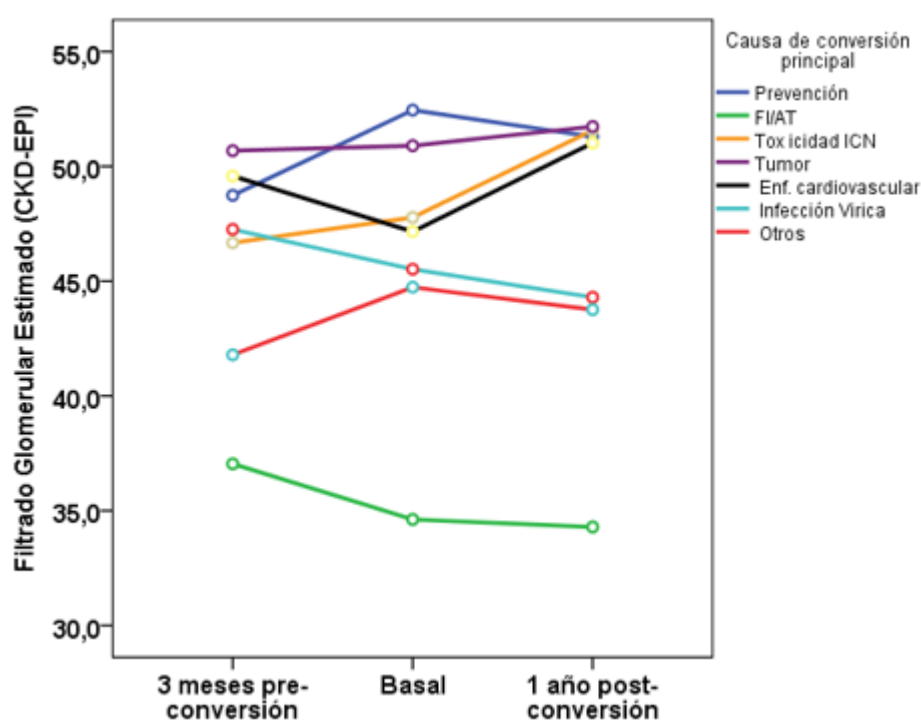
El CKD-EPI de los pacientes que se convirtieron a i-mTOR por infecciones víricas, 3 meses antes de la conversión fue de  $41,62 \pm 16,68$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$ , en el momento de la conversión fue de  $44,03 \pm 17,28$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$  ( $p=0,048$ ), y tras un año con i-mTOR fue similar, de  $42,48 \pm 18,53$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$  ( $p=0,221$ ). En cuanto a la proteinuria también se observó un aumento de la misma significativo entre el momento basal ( $283,50$  mg/día) y el año tras la conversión ( $345,00$  mg/día) ( $p=0,001$ ), observándose en este caso una disminución de la misma desde 3 meses antes de la conversión ( $320$  mg/día) hasta el momento de la misma ( $283,50$  mg/día), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p=0,003$ ).

Los pacientes convertidos a i-mTOR por toxicidad derivada de ICN no vieron modificado el CKD-EPI de forma estadísticamente significativa ni entre el tercer mes preconversión ( $47,20 \pm 16,22$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$ ) y el momento basal ( $49,42 \pm 17,69$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$ ) ( $p=0,153$ ), ni entre el momento basal y al año de la conversión ( $49,04 \pm 18,93$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$ ) ( $p=0,360$ ). Sin embargo, sí se encontró un aumento estadísticamente significativo ( $p=0,001$ ) de la proteinuria basal ( $163$  mg/día) y la proteinuria al año de la conversión ( $246$  mg/día).

En el caso de los pacientes convertidos por causa tumoral pasó lo mismo, no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los CKD-EPI pre y post-conversión y el basal: el CKD-EPI 3 meses antes fue de  $50,06 \pm 18,52$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$ , en el momento de la conversión de  $50,19 \pm 18,87$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$  ( $p=0,536$ ), y al año de la conversión fue de  $51,81 \pm 19,70$  mL/min/ $1,73 \text{ m}^2$  ( $p=0,285$ ). También se observó un

aumento estadísticamente significativo entre la proteinuria basal (255 mg/día) y la proteinuria al año de la conversión (393 mg/día) ( $p<0,001$ ).

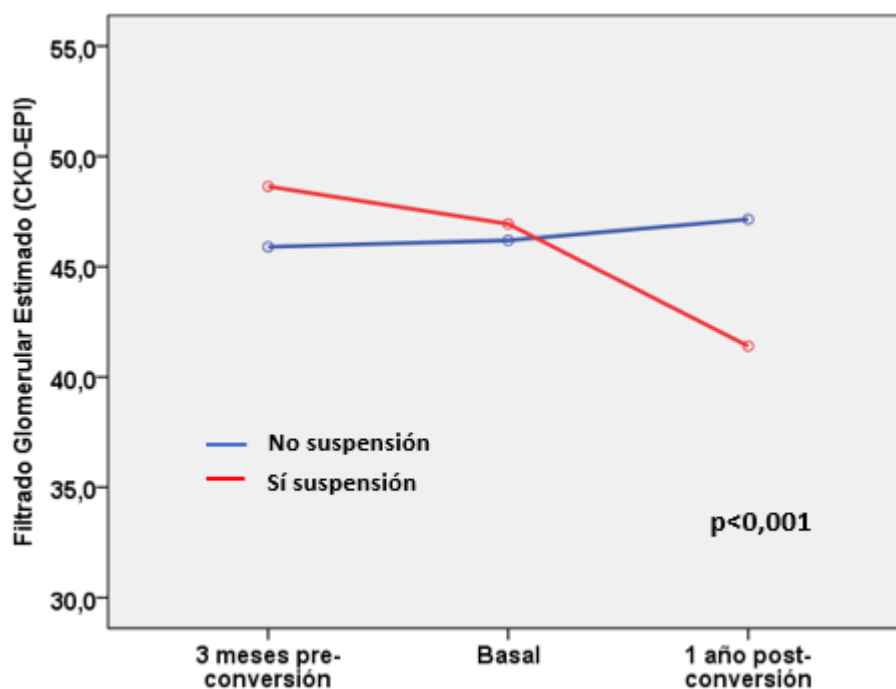
Se realizó una comparación de datos apareados en cuanto a eGFR en los tiempos siguientes: 3 meses antes de la conversión, basal y un año post-conversión. Se disponían de todos los datos en 481 pacientes. No se objetivaron diferencias estadísticamente significativas en la totalidad del grupo ( $p=0,217$ ), pero sí cuando se analizan según la causa de conversión ( $p=0,033$ ) como se puede observar en la Figura 2.



**Figura 2** Evolución del eGFR (CKD-EPI) pre- y post-conversión, en la totalidad del grupo por *intención de tratar*, estratificado según causa de conversión a i-mTOR ( $p=0,033$ ).

Los pacientes convertidos por FI/AT presentaron una tendencia estadísticamente significativa de deterioro de función renal ( $p<0,001$ ) (cuando se compara el eGFR tres meses antes de la conversión frente al basal) que se estabiliza tras la conversión ( $p=0,934$  comparación basal vs 1 año post-conversión). Lo mismo ocurrió en los pacientes convertidos por patología vascular: deterioro significativo en comparación 3 meses preconversión vs basal ( $p=0,032$ ) y mejoría posterior ( $p=0,004$ ).

Comparando los pacientes en los que se suspende el i-mTOR durante los primeros 6 meses del tratamiento (38 pacientes) frente a los que no se suspende (443 pacientes) observamos que existen diferencias estadísticamente significativas en cuanto a la evolución del CKD-EPI en los tres momentos evolutivos marcados ( $p=0,004$ ) y que los pacientes en los que se suspende el i-mTOR en los primeros 6 meses tienen peor evolución que los pacientes en los que no se suspende ( $p<0,001$ ). (Figura 3).



**Figura 3 Evolución del eGFR (CKD-EPI) comparando pacientes que suspenden i-mTOR en los primeros 6 meses frente a los que no lo suspenden**

### 5.2.2 Análisis de Factores que influyen en la evolución de la función renal

Analizamos las diferencias entre el FGe basal y al año entre aquellos pacientes que habían mantenido el tratamiento con imTOR durante al menos un año. Un 33% de los pacientes habían mejorado en 5 mL/min. Se realizó entonces un análisis de regresión logística para predecir que factores podían influir en la mejoría de función renal.

Con el fin de valorar el impacto que pudiera tener la función renal previa a la conversión (3 meses antes de la conversión) tan solo se incluyeron en el análisis los pacientes que hubieran sido convertidos a partir del sexto mes postrasplante, asumiendo que la función renal permanece estable a partir de los 3 meses post-trasplante.

Con estos requisitos se compararon 110 pacientes que habían ganado 5 mL/min en el FGe al año respecto al basal frente a 109 que empeoraban 5 mL/min, perdían el trasplante o suspendían el imTOR por deterioro de función renal.

El análisis univariado se muestra en la Tabla 8. El análisis multivariado mostró que dentro de los factores predictivos para mejoría de CKD-EPI  $\geq 5 \text{ mL/min/1.73m}^2$  al año de la conversión estaban (Tabla 9): pérdida de CKD-EPI  $> 4 \text{ mL/min/1.73m}^2$  tres meses pre-conversión [HR7,38(2,88-18,91); $p < 0,001$ ], proteinuria basal  $< 300 \text{ mg/día}$  [HR5,05(2,08-12,26); $p = 0,002$ ], CKD-EPI basal  $> 45 \text{ mL/min/1.73m}^2$  [HR2,32(1,14-4,71); $p = 0,02$ ], y las causas de conversión por enfermedad cardiovascular severa [HR19,13(2,98-122,99); $p = 0,002$ ] y tumoral [HR2,32(1,15-4,72); $p = 0,02$ ]. La edad a la conversión a i-mTOR se comportó como factor de riesgo [por cada año el HR fue de 0,97(0,947-0,999);  $p = 0,043$ ]. El colesterol basal  $\leq 200 \text{ mg/dL}$  también fue un factor



pronóstico de mejoría de filtrado glomerular, pero no estadísticamente significativo [HR1,89(0,90-3,98); p=0,09].

**Tabla 8. Factores relacionados con la mejoría del CKD-EPI  $\geq 5\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$  al año de la conversión a i-mTOR en el paciente trasplantado renal - Análisis Univariado**

	Mejoría del CKD-EPI $\geq 5\text{mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ al año de la conversión Nº/Total (%)	Hazard Ratio (IC95%)	p
<b>Sexo</b>			
• Varón	87/156 (55,8%)	1,76 (1,03-2,99)	0,037
• Mujer	23/63 (36,5%)	1	
<b>FI/AT</b>			
• No	90/161 (55,9%)	1,34 (0,76-2,39)	0,314
• Sí	20/58 (34,5%)	1	
<b>Nefrotoxicidad por ICN</b>			
• No	105/209 (50,2%)	0,76 (0,22-2,66)	0,668
• Sí	5/10 (50%)	1	
<b>Tumor</b>			
• No	55/120 (45,8%)	1	
• Sí	55/99 (55,6%)	1,02 (0,63-1,66)	0,936
<b>Enf. cardiovascular severa</b>			
• No	95/202 (47%)	1	
• Sí	15/17 (88,2%)	13,14 (1,72-100,6)	0,013
<b>Infección vírica</b>			
• No	98/196 (50%)	0,99(0,50-1,96)	0,984
• Sí	12/23 (52,2%)	1	
<b>Edad a la conversión a i-mTOR</b>			
• <65 años	96/176 (54,5%)	2,19 (1,21-3,96)	0,010
• $\geq 65$ años	14/43 (32,6%)	1	
<b>Tiempo post-Tx a conversión i-mTOR</b>			
• $\leq 12$ meses	11/23 (47,8%)	1,42 (0,68-2,96)	0,351
• 12-50 meses	38/77 (49,4%)	1,07 (0,54-2,12)	0,855
• 50-120 meses	39/73 (53,4%)	1,39 (0,69-2,82)	0,359
• >120 meses	22/46 (47,8%)	1	
<b>CKD-EPI basal</b>			
• $\leq 45\text{ mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$	47/104 (45,19%)	1	
• $>45\text{ mL}/\text{min}/1,73\text{m}^2$	68/115 (59,13%)	2,14 (1,25-3,67)	0,006
<b>Proteinuria 24 horas basal</b>			
• <300 mg/día	73/114 (64%)	3,87 (2,09-7,70)	<0,001
• 300-500 mg/día	25/52 (48,1%)	2,16 (1,08-4,33)	0,030
• >500 mg/día	12/53 (22,6%)	1	
<b>Colesterol</b>			
• $\leq 200\text{ mg}/\text{dL}$	86/158 (54,4%)	1,68 (0,98-2,90)	0,062
• $>200\text{ mg}/\text{dL}$	24/61 (39,3%)	1	
<b>TAG</b>			
• $\leq 150\text{ mg}/\text{dL}$	76/144 (52,8%)	1,21 (0,72-2,03)	0,467
• $>150\text{ mg}/\text{dL}$	34/75 (45,3%)	1	
<b>Diabetes mellitus</b>			
• No	106/208 (51%)	2,85 (0,95-8,58)	0,063
• Sí	4/11 (36,4%)	1	

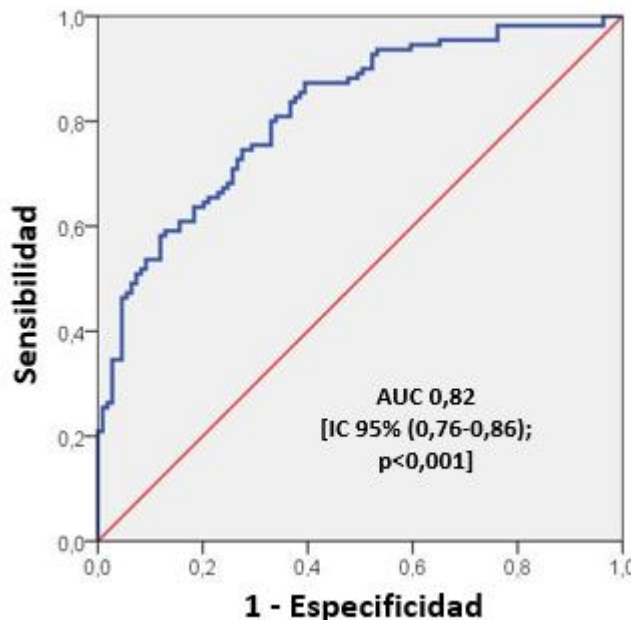


**Tabla 9. Factores relacionados con la mejoría del CKD-EPI  $\geq 5\text{ mL/min/1.73m}^2$  al año de la conversión a i-mTOR en el paciente trasplantado renal - Análisis Multivariado**

	Hazard Ratio (IC95%)	p
<b>Tumor</b>		
• No	1	
• Sí	2,32 (1,15-4,72)	0,02
<b>Enf. cardiovascular severa</b>		
• No	1	
• Sí	19,13 (2,98-122,99)	0,002
<b>Edad i-mTOR (por año)</b>	0,97 (0,947-0,999)	0,043
<b>CKD-EPI</b>		
• $\leq 45\text{ mL/min/1,73m}^2$	1	
• $>45\text{ mL/min/1,73m}^2$	2,32 (1,14-4,71)	0,020
<b>Proteinuria 24 horas basal</b>		
• $<300\text{ mg/día}$	5,05 (2,08-12,26)	$<0,001$
• $300\text{-}500\text{ mg/día}$	3,12 (1,18-8,28)	0,022
• $>500\text{ mg/día}$	1	
<b>Evolución CKD-EPI 3 meses preconversión</b>		
• Pérdida $>4\text{ mL}$	7,38 (2,88-18,91)	$<0,001$
• Pérdida $0\text{-}4\text{ mL}$	4,47 (1,74-11,46)	0,002
• Ganancia $0,1\text{-}4\text{ mL}$	1,02 (0,35-2,3)	0,973
• Ganancia $>4\text{ mL}$	1	
<b>Colesterol</b>		
• $\leq 200\text{ mg/dL}$	1,89(0,90-3,98)	0,09
• $>200\text{ mg/dL}$	1	

\*Análisis ajustado para las siguientes variables: sexo y fibrosis intersticial/atrofia tubular como causa de conversión

La predicción de este modelo fue buena con un área bajo la curva de 0.82 (IC 95% 0.76-0.87;  $p<0.001$ ) como se puede apreciar en la Figura 4.

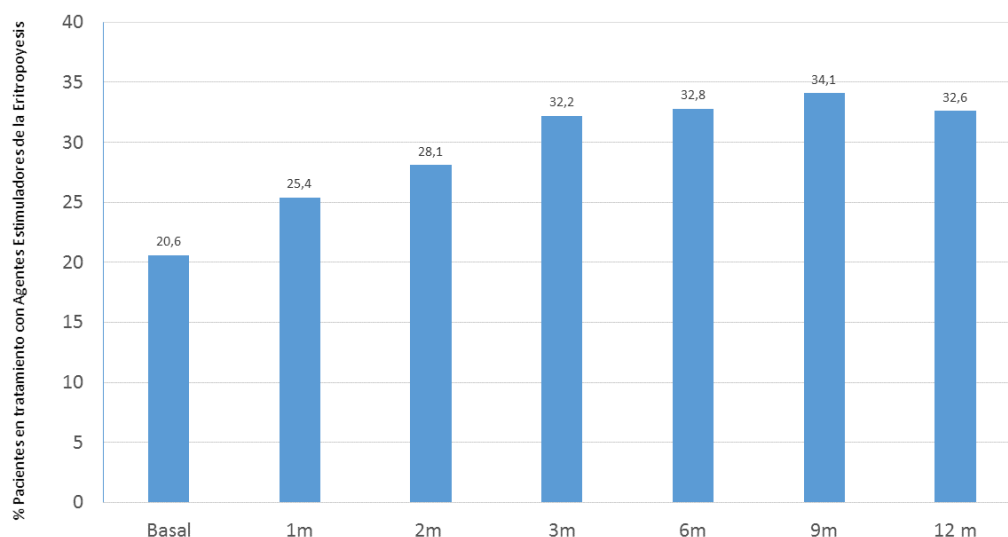


**Figura 4 Curva ROC del modelo predictivo de mejoría de la función renal**

### **5.3 HEMOGRAMA. NECESIDADES DE AGENTES ESTIMULANTES DE LA ERITROPOYESIS.**

Se analizaron las tres series hematológicas en el momento de la conversión y al año de la misma, observándose un descenso estadísticamente significativo en todas ellas ( $n=517$ ). La cifra media de hemoglobina basal fue de  $12,94\pm 1,63$  g/dL y al año de la conversión fue de  $12,77\pm 1,67$  g/dL ( $p=0,023$ ). La cifra de leucocitos basales fue de  $6.736\pm 2.353/\mu\text{L}$  y al año de la conversión fue de  $6.500\pm 1.921/\mu\text{L}$  ( $p=0,017$ ). La cifra de plaquetas basales fue de  $190.263\pm 82.926/\mu\text{L}$  y al año de la conversión fue de  $181.716\pm 84.732/\mu\text{L}$  ( $p=0,012$ ).

En cuanto a los requerimientos de agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEEs) aumentan de forma estadísticamente significativa tras la conversión ( $p<0,001$ ) (Figura 5).



**Figura 5. Porcentaje de pacientes en tratamiento con AEEs**

#### **5.4 PERFIL LIPÍDICO (COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS) Y TRATAMIENTO CON HIPOLIPEMIANTES.**

Tras la conversión se objetivó un aumento estadísticamente significativo de las cifras de colesterol (basal  $171,99 \pm 37,68$  mg/dL vs  $183,14 \pm 41,45$  mg/dL al año;  $p < 0,001$ ) y de triglicéridos ( $134,89 \pm 62,63$  mg/dL basal vs  $160,23 \pm 84,77$  mg/dL al año de la conversión;  $p < 0,001$ ).

Cuando se revisó el tratamiento hipolipemiante se observó que en el momento basal el 36,5% de los pacientes (195 pacientes) no precisaban medicación, el 47,9% (256 pacientes) estaban recibiendo estatinas, el 2,8% de los pacientes (15 pacientes) recibían

ezetrol, el 12,4% (66 pacientes) precisaban combinación estatina-ezetrol, y 2 pacientes (0,4%) estaban tomando fibratos. Al año de la conversión a i-mTOR el 20,6% de los pacientes (110 pacientes) no precisaban tratamiento farmacológico, el 47,2% (252 pacientes) recibían estatinas, el 2,2% (12 pacientes) ezetrol, el 29% (155 pacientes) combinación estatina-ezetrol, y 5 pacientes (0,9%) fibratos. Al comparar ambos momentos se observó que aumentó de forma estadísticamente significativa tanto el tratamiento con estatinas ( $p < 0,001$ ) como con ezetrol ( $p < 0,001$ ).

## 5.5 SUSPENSIÓN DE FÁRMACOS I-MTOR

El tratamiento con i-mTOR tuvo que ser suspendido en 258 pacientes (40,6%). El tiempo mediano a la suspensión fue de 15,5 meses (RIC 4,7-38,9 meses), ocurriendo el 45,5% de las suspensiones en el primer año tras la indicación. La suspensión por efectos adversos fue más frecuente con Everolimus (46,9%) que con Sirolimus (34,4%;  $p < 0,001$ ), manteniéndose estas diferencias en ambos centros

En la Tabla 10 se especifican las causas mas frecuentes de suspensión y el tiempo mediano de duración del tratamiento con imTOR.

La causa de suspensión más frecuente fue la neumonitis en 56 pacientes (8.8% del total de pacientes y 21,7% de las causas de suspensión); el 42,9% de ellas aparecieron en los primeros 6 meses tras la conversión, mientras que el 26,8% pasados los 36 meses post-conversión. Otras causas también frecuentes de retirada del i-mTOR fueron proteinuria en 47 pacientes, infecciones no controladas en 22 pacientes y deterioro de función renal en 20 pacientes. Como puede verse en la Tabla 10, hay

efectos secundarios que aparecen de forma temprana llevando a la suspensión del fármaco, como las neumonitis, erupción, anemia y rechazo, y otras mas tardías como puede ser la proteinuria o edemas.

**Tabla 10. Causas de suspensión de imTOR**

	N (% sobre el total de pacientes)	Tiempo mediano de tratamiento con i-mTOR (meses)
Neumonitis	56 (8,8%)	8,3 (2,7-39,7)
Proteinuria	47 (7,4%)	25,0 (6,2-55,9)
Infecciones no controladas	22 (3,5%)	12,4 (3,2-26,2)
Deterioro Función Renal	20 (3,1%)	10,3 (5,8-37,1)
Rechazo Agudo probado por biopsia	17 (2,7%)	9,4 (3,7-27,4)
Intervención Quirúrgica y/o Mala Cicatrización	15 (2,4%)	44,3 (17,1-60,7)
Erupciones Cutáneas o Úlceras Orales	9 (1,4%)	6,9 (2,4-39,2)
Anemia	7 (1,1%)	3,5 (2,1-6,5)
Edemas	6 (0,9%)	20,7 (7,6-34,3)
Deseo Gestacional	5 (0,8%)	33,4 (24,4-65,7)
Otras causas	55 (8,6%)	12,7 (4,1-37,2)

Es decir, los i-mTOR se tuvieron que suspender en un 32,4% de los casos por causas nefrológicas (proteinuria, deterioro de función renal y BPAR); el 67,6% restante de suspensiones se debió a otros efectos adversos no nefrológicos.

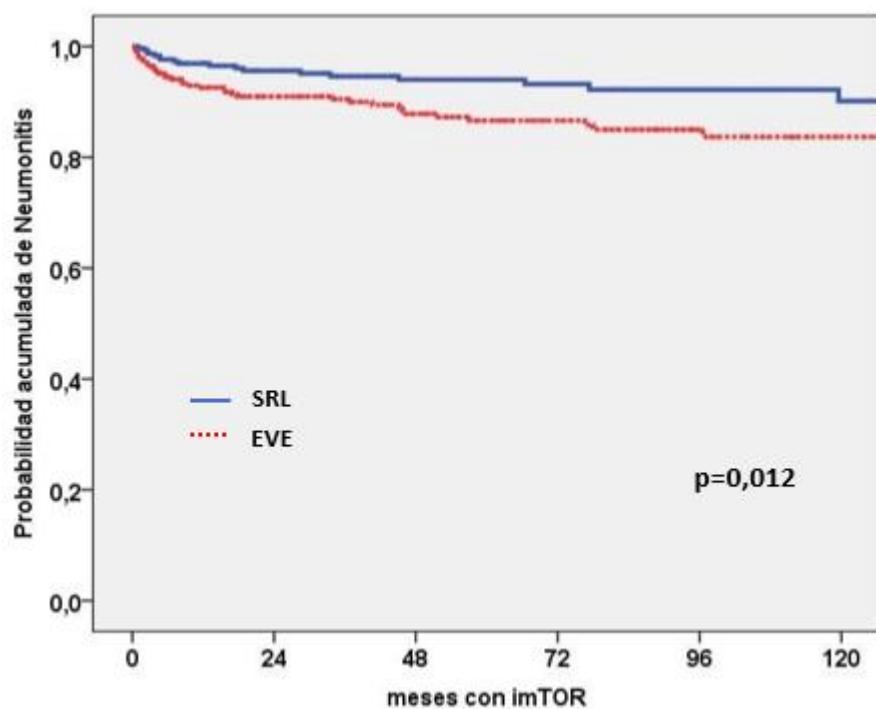
Si analizamos las causas de suspensión estratificando por tipo de i-mTOR se objetivan diferencias entre ambos siendo estadísticamente significativas las neumonitis

( $p=0,013$ ) y estando cerca de la significación las erupciones cutáneas ( $p=0,09$ ); en las restantes no se objetivaron diferencias (Tabla 11).

**Tabla 11. Motivos de Suspensión estratificando por tipo de i-mTOR**

	Sirolimus N (% sobre el total de pacientes)	Everolimus N (% sobre el total de pacientes)	p
Neumonitis	6%	11,6%	0,013
Proteinuria	6%	8,8%	0,183
Infecciones no controladas	4,4%	2,5%	0,185
Deterioro Función Renal	3,2%	3,3%	0,983
Rechazo Agudo probado por biopsia	2,2%	3,1%	0,473
Intervención Quirúrgica y/o Mala Cicatrización	1,9%	2,8%	0,444
Erupciones Cutáneas o Úlceras Orales	0,6%	2,2%	0,096
Anemia	0,9%	1,2%	0,713
Edemas	1,3%	0,6%	0,405
Deseo Gestacional	0,9%	0,6%	0,646
Otras Causas	6,9%	10,3%	0,130

En el análisis por Kaplan-Meier se objetivaron igualmente diferencias estadísticamente significativas entre ambos fármacos para la probabilidad de estar libre de neumonitis (Log-Rank  $p=0,012$ ; Breslow  $p=0,009$ ). (Figura 6)



**Figura 6. Probabilidad acumulada de neumonitis**

## 5.6 SUPERVIVENCIA DEL INJERTO

La supervivencia del injerto, censurada por muerte del paciente con injerto funcionante, tras la conversión a 1, 2, 5 y 10 años fue de 96,8%, 93,1%, 84,5% y 71,8%, respectivamente como se muestra en la Figura 7.

Durante el seguimiento, 136 pacientes (21,4%) desarrollaron insuficiencia renal crónica terminal (Tabla 12). La causa de pérdida mas frecuente fue FI/AT (N=87) seguida por rechazo crónico humoral (N=28), recidiva de enfermedad glomerular de base (N=5), nefropatía por BKV (N=4), rechazo agudo (N=3). Nueve pacientes perdieron el injerto por otras causas (complicaciones de biopsia, cirugía, glomerulonefritis de novo, pielonefritis crónica, etc).



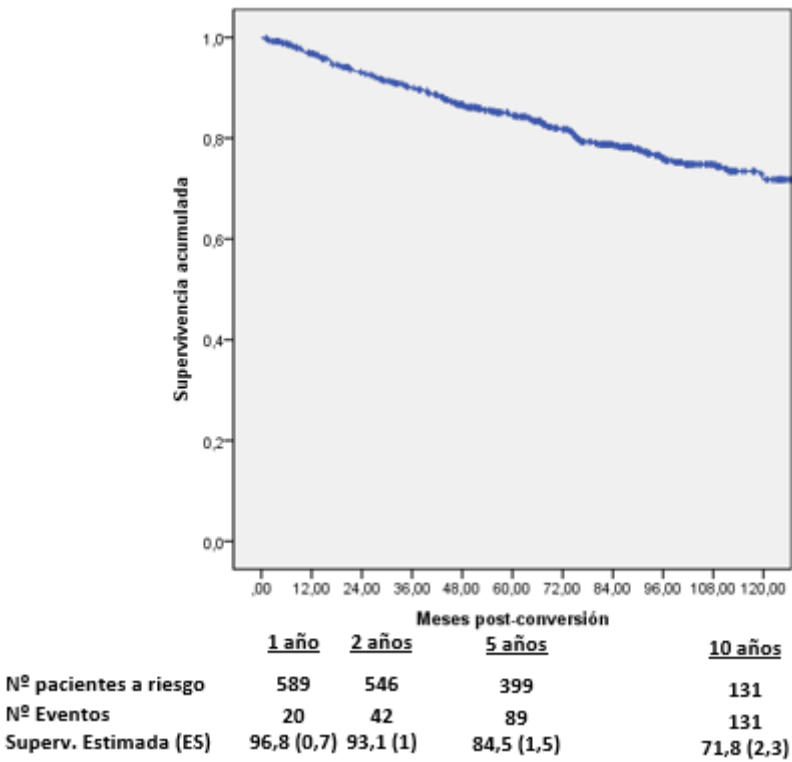


Figura 7. Curva Kaplan-Meier para supervivencia de injerto renal tras conversión a i-mTOR

Tabla 12. Causas de pérdida del injerto

	N	% sobre el total	% sobre pérdidas
FI/AT	87	13,7	64
Rechazo Crónico Humoral	28	4,4	20,6
Recidiva Glomerulonefritis	5	0,8	3,7
Nefropatía por BKV	4	0,6	2,9
Rechazo Agudo	3	0,5	2,2
Otras causas	9	1,5	6,6



Los factores relacionados con la pérdida del injerto en los pacientes trasplantados convertidos a i-mTOR se muestran en la Tabla 13. En el análisis univariado observamos cómo los trasplantados que se convierten a i-mTOR por una FI/AT establecida, tienen mayor riesgo de pérdida del injerto [HR 4,13 (2,94-5,81);  $p=0,001$ ]. Sin embargo, los pacientes en los que se hizo el cambio por causa tumoral tenían menor riesgo de perder el injerto [HR 1,51 (1,67-3,79);  $p<0,001$ , para los convertidos por causa no tumoral]. Otros factores asociados con pérdida del injerto en el análisis univariado fueron el filtrado glomerular, proteinuria, hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia basales, así como la suspensión del i-mTOR y el centro hospitalario.

El análisis multivariado finalmente mostró que los factores de riesgo para pérdida del injerto del análisis multivariado eran la función renal basal de manera que presentar un CKD-EPI basal  $<30$  mL/min/1.73m<sup>2</sup> multiplicaba el riesgo de pérdida por 6,84 [HR 6,84(3,70-12,77);  $p<0,001$ ], así como valores entre 30-45 mL/min/1,73m<sup>2</sup> en 3,11 [HR 3,11(1,67-5,81);  $p<0,001$ ] (Figura 8). Otros factores fueron proteinuria basal  $>500$ mg/día [HR2,38(1,59-3,57);  $p<0,001$ ] (Figura 9), hipercolesterolemia basal  $>200$ mg/dL [HR1,55(1,08-2,23);  $p=0,018$ ] (Figura 10) y suspensión de i-mTOR [HR1,77(1,25-2,52);  $p<0,001$ ] (Figura 11). La edad a la conversión a i-mTOR se comportó como factor protector [por cada año el HR fue de 0,98 (0,968-0,995);  $p=0,006$ ] (Figura 12) (Tabla 14).

**Tabla 13 Factores relacionados con la pérdida del injerto renal en el paciente trasplantado convertido a i-mTOR. Análisis Univariado.**

Supervivencia acumulada a 5 años	%[SE] [Nº remanente/Nºeventos]	Hazard Ratio (IC95%)	P
<b>Centro hospitalario</b>			
• 1	75,9 (3,1) [118/47]	1,51 (1,07-2,11)	0,018
• 2	85(1,9) [223/54]	1	
<b>Sexo</b>			
• Varón	83,3(2,0) [223/61]	1	
• Mujer	78,7 (3,0) [118/40]	1,30 (0,92-1,84)	0,133
<b>Tipo de i-mTOR</b>			
• Sirolimus	82,4(2,4) [155/47]	1,04 (0,75-1,46)	0,802
• Everolimus	81,3 (2,3) [186/54]	1	
<b>Nº de trasplante</b>			
• Primero	82,4 (1,8) [291/83]	1	
• Retrasplante	78,2 (4,6) [50/18]	1,31 (0,84-2,04)	0,232
<b>Combinación con ICN</b>			
• No	81,1 (1,8) [317/91]	1,43 (0,77-2,66)	0,262
• Sí	86,5 (4,2) [24/10]	1	
<b>Fi/AT</b>			
• No	87,7 (1,7) [255/48]	1	
• Sí	65 (3,9) [86/53]	4,13 (2,94-5,81)	0,001
<b>Tumor</b>			
• No	77,5 (2,3) [201/78]	1,51 (1,67-3,79)	<0,001
• Sí	88,5 (2,3) [140/23]	1	
<b>Enfermedad cardiovascular</b>			
• No	81,3 (1,7) [313/96]	1,93 (0,85-4,39)	0,115
• Sí	87,3 (5,3) [28/5]	1	
<b>CMV</b>			
• No	81,6 (1,8) [308/88]	1	
• Sí	83,7 (4,2) [33/13]	0,91 (0,53-1,56)	0,728
<b>Preventiva</b>			
• No	81,7 (1,7) [304/93]	1	
• Sí	83,5 (5,4) [37/8]	0,76 (0,40-1,46)	0,412
<b>Tiempo a la conversión</b>			
• ≤ 12 meses	85,2 (3,2) [75/19]	1	
• 12 – 50 meses	83,3 (3,0) [100/26]	1,02 (0,62 – 1,69)	0,935
• 50 – 120 meses	81,3 (3,3) [88/26]	1,24 (0,76 – 2,04)	0,393
• >120 meses	77,2 (3,7) [78/30]	1,41 (0,86 – 2,30)	0,176
<b>CKD-EPI basal</b>			
• <30mL/min/1,73m <sup>2</sup>	58,2 (4,6) [50/51]	8,24 (4,52-15,02)	<0,001
• 30-45mL/min/1,73m <sup>2</sup>	83 (3) [104/28]	3,45 (1,87-6,39)	<0,001
• 45-55mL/min/1,73m <sup>2</sup>	88 (3,1) [81/13]	1,71 (0,82-3,56)	0,149
• >55mL/min/1,73m <sup>2</sup>	94,3 (1,8) [105/9]	1	
<b>Proteinuria 24 horas basal</b>			
• <300mg/día	90,6 (1,8) [197/26]	1	
• 300-500 mg/día	78,4 (3,8) [73/26]	1,72 (1,08-2,75)	0,022
• >500 mg/día	67,6 (3,9) [69/48]	3,66 (2,47-5,41)	<0,001
<b>Colesterol</b>			
• ≤200 mg/dL	83,9 (1,8) [258/67]	1	
• >200 mg/dL	74,5 (3,8) [80/34]	1,64 (1,14-2,34)	0,007
<b>TAG</b>			
• ≤150 mg/dL	82,3(2) [236/67]	1	
• >150 mg/dL	80,3 (3,1) [102/34]	1,33 (0,94-1,88)	0,110
<b>Suspensión i-mTOR</b>			
• Sí	76,4(2,8) [145/56]	2,17 (1,54-3,07)	<0,001
• No	85,9(2) [196/45]	1	

Tabla 14 Factores pronósticos de pérdida de injerto en el paciente trasplantado convertido a i-mTOR - Análisis Multivariado.

	Hazard Ratio (95%IC)	p
<b>CKD-EPI basal</b>		
• <30 mL/min/1,73 m <sup>2</sup>	6,84 (3,70-12,77)	<0,001
• 30-45 mL/min/1,73 m <sup>2</sup>	3,11 (1,67-5,81)	<0,001
• 45-55 mL/min/1,73 m <sup>2</sup>	1,62 (0,78-3,38)	0,195
• >55 mL/min/1,73 m <sup>2</sup>	1	
<b>Proteinuria 24 h basal</b>		
• <300 mg/día	1	0,376
• 300-500 mg/día	1,24 (0,77-2)	
• >500 mg/día	2,38 (1,59-3,57)	<0,001
<b>Colesterol</b>		
• ≤200 mg/dL	1	0,018
• >200 mg/dL	1,55 (1,08-2,23)	
<b>Suspensión i-mTOR</b>		
• Sí	1,77 (1,25-2,52)	<0,001
• No	1	
<b>Edad i-mTOR (por año)</b>	0,981 (0,968-0,995)	0,006

\*Análisis ajustado para las siguientes variables: Código de centro, Combinación con ICN y TAG

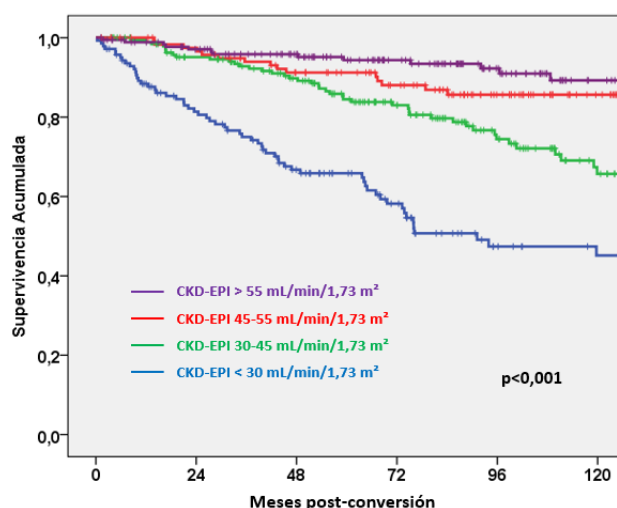


Figura 8 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según CKD-EPI basal

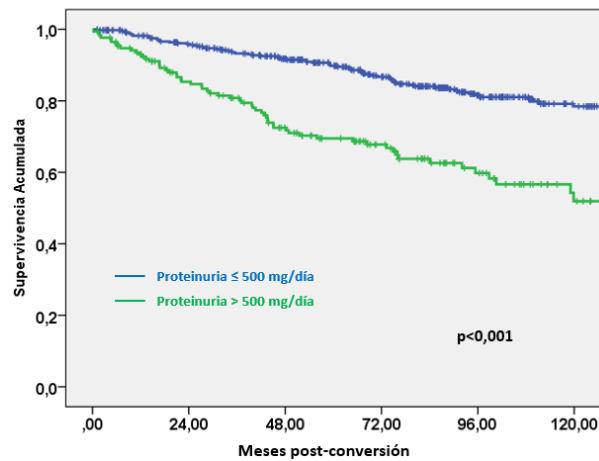


Figura 9 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según proteinuria basal

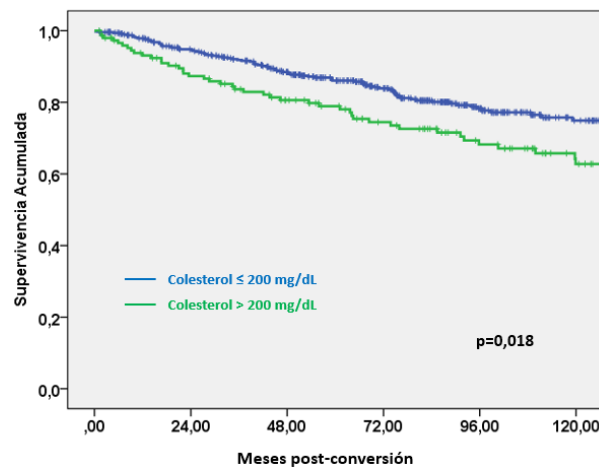


Figura 10 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según colesterolemia basal

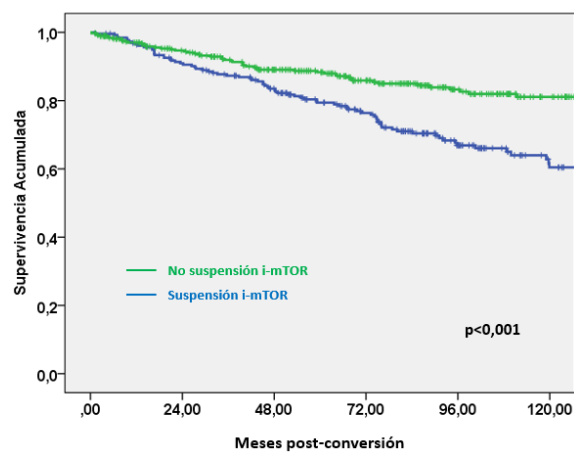
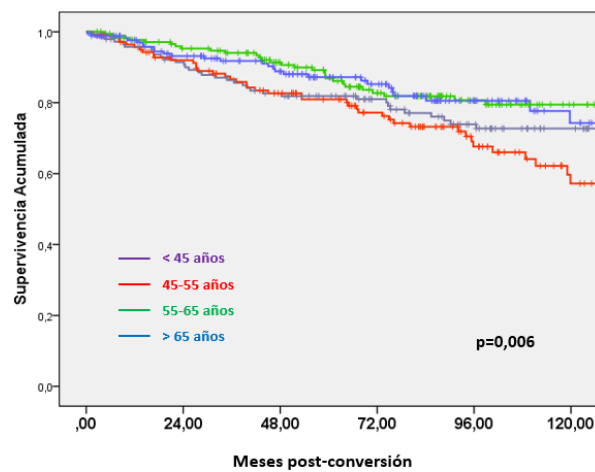


Figura 11 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según suspensión i-mTOR



**Figura 12 Curva Kaplan Meier para supervivencia de injerto según edad a la conversión**

Cuando analizamos la supervivencia del injerto sin censurar la muerte del paciente (Figura 13), los peores resultados se obtuvieron en aquellos pacientes convertidos por FI/AT, siendo estadísticamente significativo frente a las otras causas (Tabla 15). Asimismo, se objetivó peor supervivencia en el grupo de causa tumoral cuando se comparó frente a preventiva, toxicidad por ICN y otros y, finalmente cuando se comparó el grupo de riesgo cardiovascular frente a toxicidad por ICN (Tabla 15).

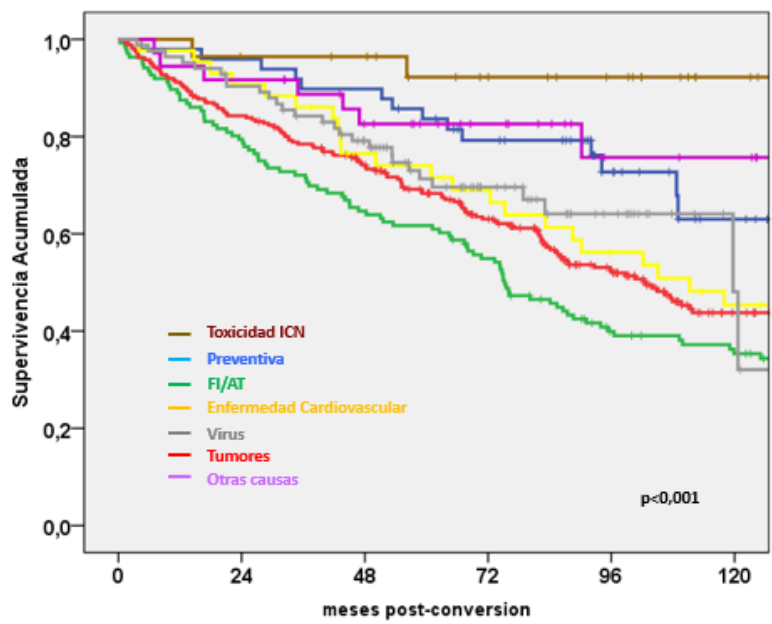


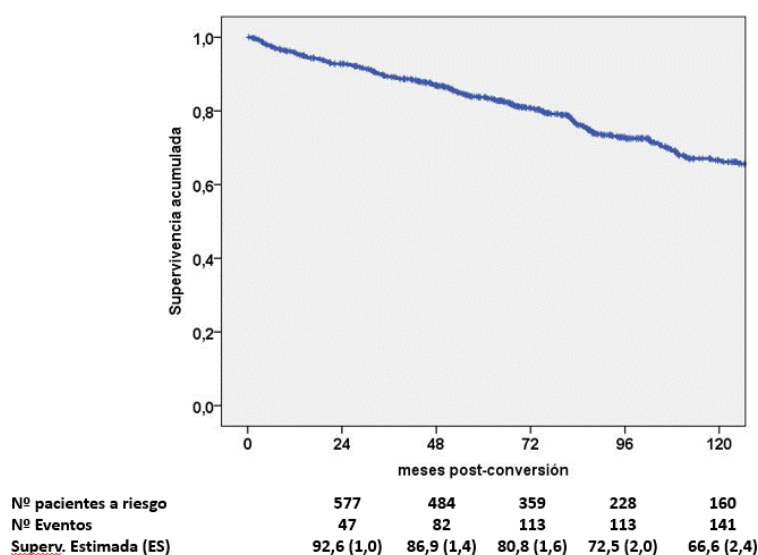
Figura 13. Supervivencia del injerto (muerte no censurada)

Tabla 15. Analisis Log-Rank por estratos para supervivencia del injerto (muerte no censurada)

Causa de conversión	Preventiva p	FI/AT p	Toxicidad ICN p	Tumor p	Enfermedad cardiovascular p	Infección Virus p	Otras causas p
Preventiva		<0,001	0,041	0,008	0,081	0,112	0,848
FI/AT	<0,001		<0,001	0,035	0,073	0,010	0,003
Toxicidad ICN	0,041	<0,001		<0,001	0,002	0,003	0,073
Tumor	0,008	0,035	<0,001		0,544	0,222	0,032
Enfermedad cardiovascular	0,081	0,073	0,002	0,544		0,795	0,165
Infección Virus	0,112	0,010	0,003	0,222	0,795		0,117
Otras causas	0,848	0,003	0,073	0,032	0,165	0,117	

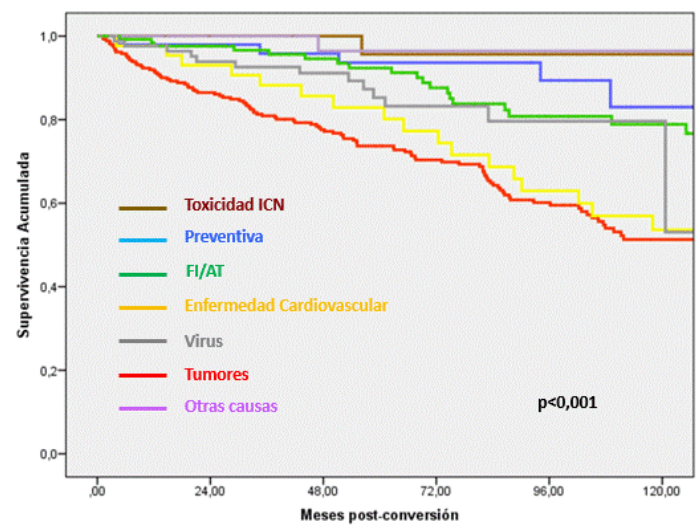
## 5.7 SUPERVIVENCIA DEL PACIENTE.

La supervivencia del paciente (análisis por intención de tratar) a 2, 5 y 10 años fue de 92,6%, 80,8% y 66,6% respectivamente como se muestra en la siguiente gráfica (Figura 14). Durante el seguimiento hubo 173 muertes, de las cuales el 37% fueron debidas a neoplasias, el 27,7% a causa cardiovascular, el 25,4% fueron debidas a sepsis y el 9,8% a otras causas de muerte.



**Figura 14 Curva Kaplan Meier para supervivencia del paciente tras conversión a i-mTOR**

Si estratificamos por la causa más grave de conversión, la supervivencia del paciente fue peor para aquellos convertidos por tumores o enfermedad cardiovascular como puede apreciarse en la Figura 15. En la Tabla 16 se muestra la comparación por estratos de causas de conversión a i-mTOR.



**Figura 15. Curva Kaplan Meier para supervivencia de paciente estratificando por causa de conversión a i-mTOR**

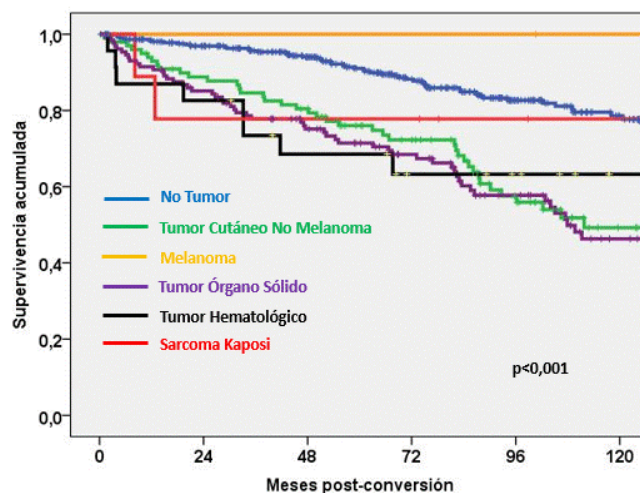
**Tabla 16. Comparación de la supervivencia del paciente, por estratos de causa de conversión a i-mTOR**

Causa de conversión	Preventiva p	FI/AT p	Toxicidad ICN p	Tumor p	Enfermedad cardiovascular p	Otras causas p	Infección Virus p
Preventiva		0,251	0,278	0,000	0,004	0,265	0,094
FI/AT	0,251		0,063	0,000	0,024	0,060	0,406
Toxicidad ICN	0,278	0,063		0,001	0,003	0,945	0,035
Tumor	0,000	0,000	0,001		0,526	0,000	0,009
Enfermedad cardiovascular	0,004	0,024	0,003	0,526		0,002	0,180
Otras causas	0,265	0,060	0,945	0,000	0,002		0,022

Si analizamos por tipo de tumor la supervivencia fue peor para las conversiones por tumores cutáneos no melanomas y por tumores sólidos como queda reflejado en la



Figura 16. En la Tabla 17 se muestra la comparación por estratos de tipo de tumor por el que se convierte a i-mTOR.



**Figura 16. Curva Kaplan Meier para supervivencia de paciente estratificando por tipos de tumores que condicionaron la conversión a i-mTOR**

**Tabla 17. Comparación de la supervivencia del paciente, por estratos de tipo de tumor**

Tipo de Tumor	No Tumor	Tumor Cutáneo No Melanoma	Melanoma	Tumor Órgano Sólido	Tumor Hematológico	Sarcoma Kaposi
No Tumor		<0.001	0.331	<0.001	0.002	0.877
Tumor Cutáneo No Melanoma	<0.001		0.140	0.672	0.771	0.280
Melanoma	0.331	0.140		0.137	0.178	0.400
Tumor Órgano Sólido	<0.001	0.672	0.137		0.800	0.225
Tumor Hematológico	0.002	0.771	0.178	0.800		0.392
Sarcoma Kaposi	0.877	0.280	0.400	0.225	0.392	

En la Tabla 18 observamos la edad a la conversión de los pacientes convertidos por causa tumoral y el resto de causas, así como el tiempo desde el trasplante a la conversión de los diferentes casos, observando que los pacientes convertidos por tumor cutáneo no melanoma tenía una edad superior que los convertidos por otro tipo de tumores (64,77 años vs 58,51 años;  $p<0,001$ ), y que además llevaban más tiempo trasplantados en el momento de la conversión (121,87 meses vs 78,82 meses;  $p<0,001$ ).

**Tabla 18. Edad y tiempo post-trasplante a la conversión de los diferentes tipos de tumores**

	N	Edad a la conversión (años) (media y DE)	Tiempo post-Tx a la conversión (meses) (mediana y RIC)
No Tumor	373	52,37 $\pm$ 13,14	27,47 (6,57-84,45)
Tumor Cutáneo No Melanoma	99	64,77 $\pm$ 10,31	121,87 (50,60-187,95)
Melanoma	4	53,23 $\pm$ 13,50	74,93 (31,85-132,12)
Tumor Órgano Sólido	129	60,01 $\pm$ 11,97	80,83 (37,75-146,68)
Tumor Hematológico	23	52,77 $\pm$ 12,30	89,13 (56,17-180,80)
Sarcoma Kaposi	9	54,09 $\pm$ 12,05	25,37 (13,58-60,24)

Los factores relacionados con la mortalidad en pacientes trasplantados renales convertidos a i-mTOR se muestran en la Tabla 19. En el análisis univariado de regresión de Cox podemos observar cómo tanto los pacientes con diabetes mellitus como causa de la enfermedad renal (Figura 17), así como los pacientes convertidos por causa tumoral y vascular se asocian a mayor riesgo de mortalidad. En cuando al sexo no existen diferencias significativas, pero sí se asocia a mayor riesgo de mortalidad la edad del

paciente a la conversión, de manera que pacientes entre 45-55 años en el momento de la conversión presentaron casi el doble de riesgo de mortalidad que los pacientes  $\leq 45$  años (HR 1,96 IC95% 1,01-3,79), entre 55-65 años el triple de riesgo (HR 2,99 IC95% 1,65-5,43), y los mayores de 65 años seis veces mayor riesgo de mortalidad que los menores de 45 años (HR 6,02 IC95% 3,40-10,67) (Figura 18). El tiempo del trasplante a la conversión y la proteinuria  $\geq 500$  mg/día (Figura 19) también se comportaron como factores de riesgo de mortalidad.

**Tabla 19. Factores relacionados con la mortalidad en el paciente trasplantado renal convertido a i-mTOR - Análisis Univariado.**

Supervivencia acumulada a 6 años	% (SE) [Nº remanentes/Nº eventos]	Hazards Ratio (95% IC)	p
<b>Sexo</b>			
• Varón	78,4 (2,1) [223/82]	1,33 (0,94-1,88)	0,104
• Mujer	84,2 (2,8) [118/28]	1	
<b>Causa de ERC</b>			
• Otras	73,4 (2,3) [180/108]	1	0,175
• NAE	68,4 (8,0) [20/11]	1,45 (0,85 – 2,47)	
• DM	55,5 (8,4) [15/17]	2,04 (1,28 – 3,23)	
<b>Causa Conversión</b>			
• Preventiva	93,7 (3,5) [35/3]	1	0,217
• FI/AT	87,6 (3,4) [72/12]	1,85 (0,70-4,89)	
• Toxicidad ICN	95,7 (4,3) [19/1]	0,34 (0,04-2,88)	
• Tumor	70,4 (2,9) [139/73]	4,67 (1,91-11,47)	
• Enf. cardiovascular	77,3 (6,7) [27/9]	3,87 (1,43-10,50)	
• Virus	83,2 (4,8) [31/11]	2,22 (0,79-6,25)	
• Otras	96,4 (3,5) [18/1]	0,32 (0,04-2,70)	
<b>Tipo de i-mTOR</b>			
• Sirolimus	76,2 (2,6) [155/66]	0,81 (0,60 – 1,10)	0,180
• Everolimus	84,2 (2,2) [186/44]	1	
<b>Nº de trasplante</b>			
• 1º trasplante	80,4 (1,9) [291/92]	1	0,488
• Retrasplante	79,1 (4,4) [50/18]	1,16 (0,76 – 1,76)	
<b>Edad a la conversión</b>			
• ≤ 45 años	88,5 (3,3) [56/12]	1	0,045
• 45 – 55 años	80,1 (4,3) [49/19]	1,96 (1,01 – 3,79)	
• 55 – 65 años	71,1 (4,0) [62/40]	2,99 (1,65 – 5,43)	
• > 65 años	52,7 (4,5) [48/65]	6,02 (3,40 – 10,67)	
<b>Tiempo a la conversión</b>			
• ≤ 12 meses	82,9 (3,5) [76/21]	1	0,678
• 12 – 50 meses	84,2 (3,0) [100/24]	1,11 (0,69 – 1,79)	
• 50 – 120 meses	82,0 (3,3) [88/25]	1,22 (0,75 – 1,97)	
• > 120 meses	71,7 (3,9) [78/40]	1,94 (1,24 – 3,04)	
<b>Proteinuria 24 horas</b>			
• < 500 mg/día	82 (1,9) [267/74]	1	0,009
• ≥ 500 mg/día	76,4 (3,7) [71/33]	1,56 (1,12 – 2,18)	
<b>Colesterol</b>			
• ≤ 200 mg/dL	80,8 (1,9) [258/83]	1	0,816
• > 200 mg/dL	78,1 (3,8) [80/27]	1,04 (0,73 – 1,49)	
<b>Triglicéridos</b>			
• ≤ 150 mg/dL	79,6 (2,1) [236/78]	1	0,875
• > 150 mg/dL	81,3 (3,0) [102/32]	0,97 (0,70 – 1,36)	
<b>MMF/MPA basal</b>			
• No	74,7 (3,5) [77/41]	1	0,004
• Si	82,5 (1,9) [264/69]	0,62 (0,45 – 0,86)	
<b>Combinación con ICN</b>			
• No	79,5 (1,8) [317/100]	1	0,084
• Si	85,4 (4,5) [24/10]	0,57 (0,30 – 1,08)	
<b>Suspensión de i-mTOR</b>			
• Si	83,1 (2,6) [145/37]	1	0,511
• No	78,3 (2,3) [196/37]	1,11 (0,81 – 1,52)	

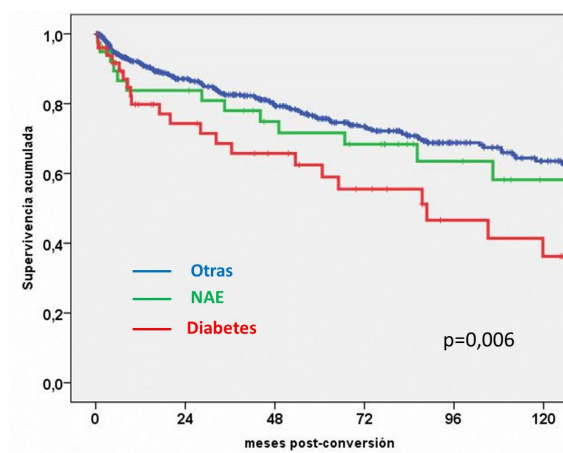


Figura 17. Curva Kaplan-Meier para supervivencia de pacientes según etiología de ERC

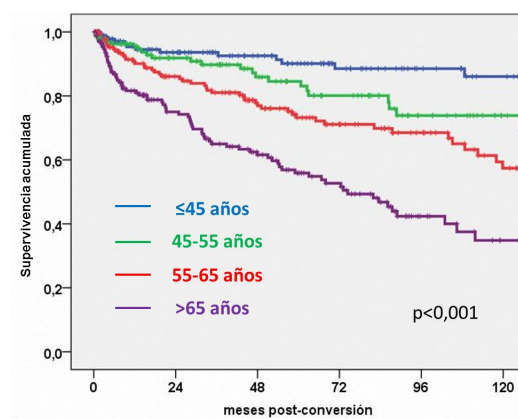


Figura 18. Curva Kaplan-Meier para supervivencia de paciente según edad a la conversión a i-mTOR

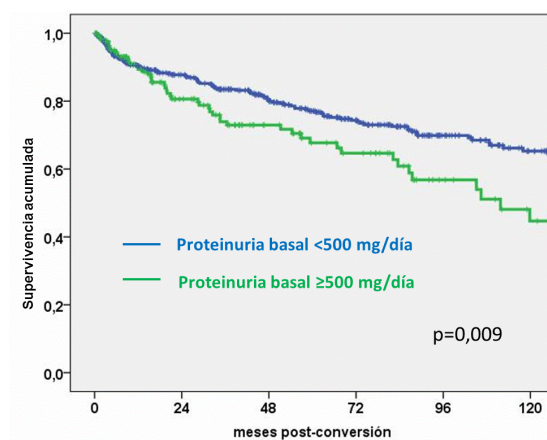


Figura 19. Curva Kaplan-Meier para supervivencia de paciente según proteinuria 24h basal

El análisis multivariado de Cox mostró de los factores de riesgo independientes para mortalidad en el paciente trasplantado renal convertido a i-mTOR se muestra en la Tabla 20. En él observamos que todas las variables significativas del análisis univariado se mantienen, además de la condición de retrasplante que aumenta el riesgo de muerte instantáneo en un 62% con respecto a los primeros trasplantes. Por lo tanto, los factores de riesgo significativos para muerte fueron: diabetes [HR 2,23(1,34-3,72);p=0,002], conversión por tumor [HR 2,91(1,97-4,31);p<0,001], conversión por enfermedad cardiovascular severa [HR 1,98(1,09-3,58);p=0,025], retrasplante [HR 1,62(1,04-2,53);p=0,03], pacientes >55 años en el momento de la conversión [HR 2,15(1,14-4,03);p=0,018], y proteinuria >500 mg/día a la conversión [HR 1,79(1,27-2,53);p<0,001].

Excluyendo a los pacientes con patología tumoral más grave (tumores de órgano sólido y tumores hematológicos), la supervivencia del paciente convertido a i-mTOR, queda reflejada en la siguiente gráfica (Figura 20), siendo a 2, 5 y 10 años de 94,7%, 87,2% y 71,5% respectivamente.

Tabla 20. Factores pronósticos de mortalidad en el paciente trasplantado renal convertido a i-mTOR -Análisis Multivariado.

	Hazards Ratio (95% IC)	p
<b>Causa de ERC</b>		
• NAE	0,86 (0,49-1,51)	0,602
• DM	2,23 (1,34-3,72)	0,002
• Otras	1	
<b>Causa Conversión</b>		
• Tumor	2,91 (1,97-4,31)	<0,001
• Enf. Cardiovascular	1,98 (1,09-3,58)	0,025
• Resto	1	
<b>Trasplante previo</b>		
• No	1	
• Si	1,62 (1,04-2,53)	0,03
<b>Edad i-mTOR</b>		
• ≤ 45 años	1	
• 45 – 55 años	1,68 (0,85-3,34)	0,136
• 55 – 65 años	2,15 (1,14-4,03)	0,018
• > 65 años	4,34 (2,35-8,03)	<0,001
<b>Proteinuria 24 horas</b>		
• ≤ 500 mg/día	1	
• > 500 mg/día	1,79 (1,27–2,53)	0,001

\*Análisis ajustado para las siguientes variables: sexo, tiempo a la conversión y combinación con ICN

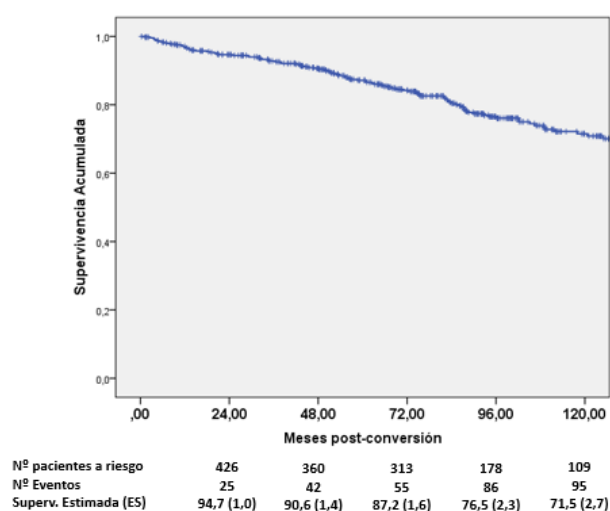


Figura 20 Curva Kaplan Meier para supervivencia del paciente, excluyendo tumores de órgano sólido y tumores hematológicos

## 5.8 ANÁLISIS DE LA VARIABILIDAD DE LOS I-MTOR Y SU RELACIÓN CON LA SUPERVIVENCIA DEL INJERTO

De los 279 pacientes analizados 130 trasplantados fueron convertidos a sirolimus y 149 a everolimus. El tiempo medio a la conversión postrasplante fue  $51,6 \pm 10,2$  meses. 124 conversiones se realizaron en el primer año postrasplante y 155 conversiones se realizaron tras el primer año del trasplante. La media y la mediana de la CV de todo el grupo fue 25,54% y 23,7% respectivamente. Los valores promedio del CV de SRL fueron 23,8% y de EVE fueron 27,1% en todo el grupo ( $p = 0,03$ ). En el subgrupo de conversiones tardías ( $> 1$  año postrasplante), el CV de SRL fue 23,1% y de EVE fue 29,0% ( $p = 0,006$ ).

Los pacientes del último tercil se compararon con el grupo de pacientes del primer y segundo tercil. Las principales características de los pacientes se muestran en la Tabla 21. Los pacientes del tercer tercil eran de edad superior y se trataron con más frecuencia con EVE. Las causas de enfermedad renal crónica, motivo de conversión, tiempo de seguimiento, y creatinina y proteinuria en el momento de la conversión y a los 18 meses no fueron significativamente diferentes entre ambos grupos. Sí se observó una mayor pérdida del injerto censurando la muerte en los pacientes con mayor variabilidad de niveles de i-mTOR: los pacientes pertenecientes al tercer tercil perdían más el injerto al censurar por muerte ( $p < 0,001$ ) (Tabla 22). Al analizar los niveles medios de i-mTOR se observó que aquellos pacientes del grupo de tercer tercil presentaron niveles significativamente más elevados de SRL ( $p = 0,005$ ) y sin diferencias estadísticamente significativas en los niveles de EVE.

Las características de los pacientes que perdieron el injerto se muestran en la Tabla 23, en donde se realiza un análisis comparativo entre lo trasplantados que pierden



el injerto y los que no lo pierden, demostrando que la variabilidad era un factor importante asociado a la pérdida del injerto censurando la muerte, así como también lo era el tiempo a la conversión y la aparición de proteinuria tras la conversión. Además, los niveles medios de EVE en sangre fueron más bajos en los pacientes que perdieron su injerto. La AUC-ROC de la variabilidad del nivel de i-mTOR para predecir la pérdida del injerto censurando la muerte fue significativa (AUC-ROC 0,669, IC del 95%: 0,563-0,776,  $p = 0,001$ ) (Figura 21). El análisis de supervivencia Kaplan-Meier mostró que los pacientes en el tercil más alto sufrían más pérdida de injerto censurada por muerte tras la conversión a i-mTOR (supervivencia al injerto a 5 años 93,4% vs. 78,8% Log-rank  $p < 0,001$ ) (Figura 22).

**Tabla 21 Características de los pacientes por terciles de coeficiente de variabilidad de niveles plasmáticos de i-mTOR**

	1º y 2º TERCIL (n = 186)	3º TERCIL (n = 93)	p
Edad a la conversión (años)	52,5 ± 14,2	56,1 ± 12,7	0,037
Sexo (varones)	63,4%	68,8%	0,374
Sirolimus/Everolimus	97/89	33/60	0,009
Etiología de ERC			0,653
• Glomerulonefritis	29,0%	29,0%	
• Nefropatía tubulointersticial	15,6%	10,7%	
• Nefroangioesclerosis	4,3%	5,4%	
• Poliquistosis Renal	19,9%	19,3%	
• Diabetes Mellitus	5,9%	6,5%	
• Otras causas	25,3%	29,1%	
Indicaciones de conversión			0,764
• Estrategia Preventiva	10,2%	9,7%	
• FI/AT	2,7%	5,4%	
• Toxicidad ICN	9,1%	10,8%	
• Tumores	31,7%	30,1%	
• Enfermedad Cardiovascular	0,6%	2,2%	
• Infecciones Víricas	45,7%	41,8%	
Meses post-Tx conversión	55,3 ± 73,6	51,1 ± 74,3	0,648
Seguimiento post-conversión	119,9 ± 81,5	113,2 ± 78,5	0,511
Creatinina pl basal (mg/dL)	2,09 ± 1,95	2,11 ± 1,63	0,945
Creatinina pl 18 m (mg/dl)	1,56 ± 0,59	1,73 ± 0,83	0,109
Proteinuria basal (mg/g)	880 ± 3623	509 ± 964	0,338
Proteinuria 18 m (mg/g)	431 ± 505	512 ± 587	0,297

**Tabla 22 Niveles plasmáticos de i-mTOR y Pérdida de Injerto censurando la muerte por terciles de coeficiente de variabilidad de niveles plasmáticos de i-mTOR**

	1º y 2º TERCIL (n = 186)	3º TERCIL (n = 93)	p
<b>Variabilidad i-mTOR</b>	<b>18,40 ± 6,11</b>	<b>39,84 ± 10,90</b>	<b>&lt; 0,001</b>
• Sirolimus	18,00 ± 5,81	40,83 ± 11,86	< 0,001
• Everolimus	18,83 ± 6,43	39,29 ± 10,39	< 0,001
<b>Niveles i-mTOR medios (ng/mL)</b>	<b>6,94 ± 1,65</b>	<b>7,19 ± 1,76</b>	<b>0,245</b>
• Sirolimus	7,01 ± 1,55	7,91 ± 1,70	0,005
• Everolimus	6,86 ± 1,76	6,77 ± 1,68	0,801
<b>Pérdida Injerto Censurando Muerte</b>	<b>7,0%</b>	<b>24,7%</b>	<b>&lt;0,001</b>

Tabla 23 Variables relacionadas con la pérdida del injerto renal censurando muerte

	Supervivencia injerto censurando la muerte (N = 243)	Pérdida injerto censurando la muerte (N = 36)	p
Edad a la conversión (años)	53,5 ± 14,1	54,9 ± 11,8	0,573
Sexo (varón)	65,0%	66,7%	0,847
Sirolimus/Everolimus	108/135	22/14	0,061
Etiología ERC			0,312
- Glomerulonefritis	27,2%	41,7%	
- Nefritis tubulointersticiales	14,8%	8,4%	
- Nefroangioesclerosis	4,5%	5,5%	
- Poliquistosis Renal	21,8%	5,5%	
- Diabetes Mellitus	6,2%	5,5%	
- Otras causas	25,5%	33,4%	
Indicaciones de conversión			0,159
- Estrategia Preventiva	10,7%	5,6%	
- FI/AT	2,5%	11,1%	
- Toxicidad ICN	9,5%	11,1%	
- Tumores	31,3%	30,6%	
- Enf. Cardiovascular	0,8%	2,7%	
- Infección Vírica	45,2%	38,9%	
Tiempo a la conversión	50,0 ± 70,5	80,4 ± 89,1	0,057
Seguimiento	116,8 ± 78,6	123,5 ± 92,5	0,683
Seguimiento post-conversión	66,8 ± 22,2	43,1 ± 20,1	<0,001
Creatinina pl basal (mg/dL)	2,09 ± 1,96	2,14 ± 0,77	0,897
Creatinina pl 18 m (mg/dL)	1,53 ± 0,55	2,32 ± 1,09	0,001
Proteinuria basal (mg/g)	759 ± 3152	704 ± 1372	0,922
Proteinuria 18 m (mg/g)	377 ± 416	1056 ± 851	< 0,001
Variabilidad i-mTOR	24,5 ± 12,4	32,6 ± 14,3	0,003
- Sirolimus	22,4 ± 11,6	30,8 ± 15,1	0,020
- Everolimus	26,2 ± 12,7	35,3 ± 13,0	0,012
Niveles i-mTOR medios (ng/mL)	7,1 ± 1,7	6,7 ± 1,9	0,165
- Sirolimus	7,2 ± 1,6	7,4 ± 1,8	0,586
- Everolimus	7,0 ± 1,7	5,5 ± 1,4	0,002

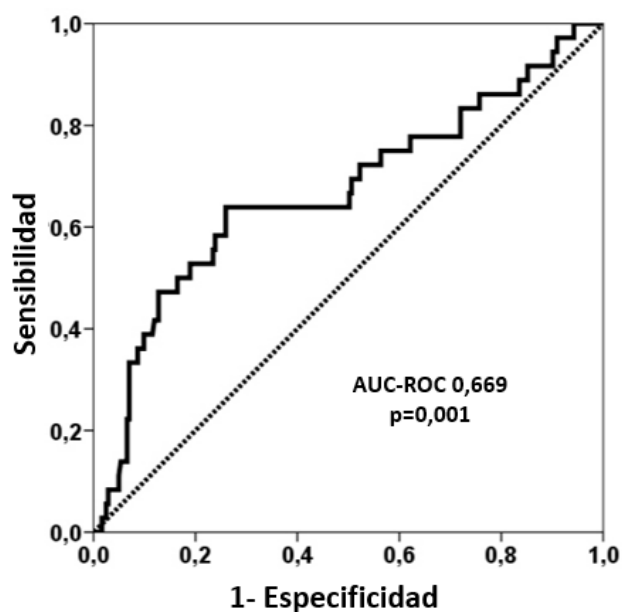


Figura 21 Curva ROC de variabilidad para pérdida de injerto censurando muerte

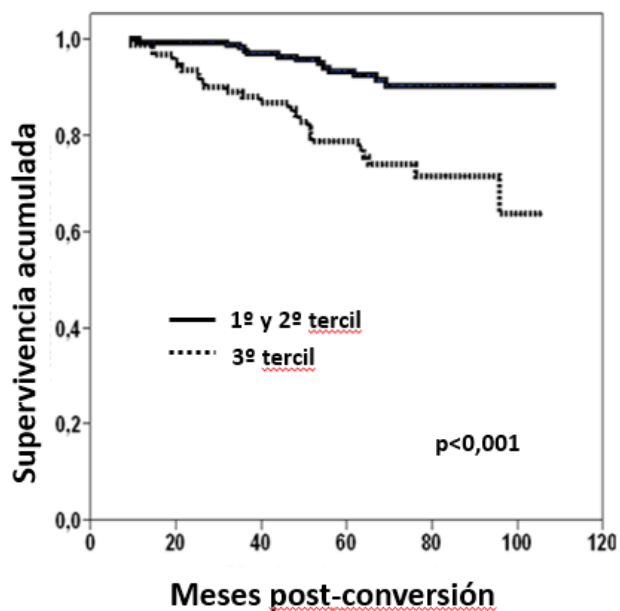


Figura 22 Curva de Supervivencia Kaplan Meier para pérdida de injerto censurando muerte



## **6 DISCUSIÓN**

El uso clínico de los fármacos i-mTOR sigue siendo un desafío tras 20 años de ensayos clínicos. Su utilización continúa siendo, en muchas ocasiones, todo un reto para el clínico, tanto por la dificultad en el manejo de sus efectos adversos, como por su menor capacidad inmunosupresora, sobre todo en el campo de la respuesta humoral tan ampliamente desarrollado en la última década, y a pesar de ello inabordable todavía. Se necesita más investigación para conocer más a fondo el potencial efecto beneficioso de i-mTOR y mitigar sus eventos adversos. Los avances en el conocimiento son fundamentales para mejorar las estrategias actuales, considerando la diversidad de receptores de trasplante renal, y el número limitado de opciones terapéuticas, agravado aún más por la ausencia de nuevos compuestos en etapas avanzadas de desarrollo para uso clínico en los próximos años.

Con todas las limitaciones de un estudio observacional, con recogida de datos retrospectiva en algunos casos y prospectiva en la mayoría, hemos conseguido analizar 637 pacientes trasplantados renales adultos convertidos de ICN a i-mTOR entre los años 1999 y 2015. Los motivos de conversión estuvieron estrictamente definidos y protocolizados, de manera que las conversiones en ambos hospitales se realizaron de una forma homogénea, y los datos clínicos y analíticos fueron recogidos de una forma muy minuciosa y pormenorizada.

Las principales fortalezas de este estudio radican en la protocolización de la conversión a i-mTOR, en el número de pacientes incluidos y en el tiempo de seguimiento alcanzado.

Analizado en conjunto, agrupando causas de conversión, los cambios de inmunosupresión de ICN a i-mTOR se llevaron a cabo en la mayor parte de los casos por causas graves como la presencia de tumor, infecciones víricas y enfermedad cardiovascular severa. Nuestro grupo estaba convencido, al menos en las dos primeras, de que era el mejor tratamiento disponible para estos pacientes, motivo por el que no disponemos de un brazo control de trasplantes renales de características similares con ICN de mantenimiento, siendo ésta la mayor debilidad del estudio. No obstante, y a pesar de ser pacientes trasplantados con mucha comorbilidad asociada (sobre todo tumoral y vascular), la supervivencia alcanzada, tanto del injerto como del paciente, ha resultado ser comparable con la descrita en la bibliografía de series menos sesgadas por la patología asociada de los pacientes trasplantados convertidos a i-mTOR<sup>271</sup>.

Si bien es cierto que los motivos de conversión estuvieron protocolizados, estamos hablando de conversiones realizadas durante más de 15 años en los que la actividad científica sobre estos nuevos inmunosupresores ha sido muy prolífica, aprendiendo mucho sobre el manejo de los mismos. Esto hace que la serie no sea del todo homogénea. Inicialmente, los pacientes convertidos por FI/AT fueron trasplantes cuya función renal se iba deteriorando sin proteinuria importante; en muchos de estos pacientes se realizó biopsia renal con el diagnóstico casi unánime de “nefropatía crónica del injerto” siguiendo la clasificación de Banff vigente de 1993<sup>22</sup>. Dado este resultado histológico prácticamente generalizado, en otros muchos pacientes con dicha evolución inequívoca no se llegó a realizar biopsia y se clasificaron directamente como FI/AT. Muy posiblemente, en esta serie, algunos pacientes convertidos por FI/AT presentaran realmente un rechazo crónico mediado por anticuerpos y la conversión a i-mTOR con



suspensión de ICN probablemente no fuera beneficiosa o incluso podría haber perjudicado la evolución del proceso. La clasificación de Banff del año 2005<sup>24</sup> arrojó dos conceptos fundamentales que consiguieron ordenar este *cajón de sastre* que era la mal llamada “nefropatía crónica del injerto”: el IF/TA NOS y el rechazo crónico mediado por anticuerpos. De hecho, en nuestra serie de pacientes, el grupo convertido por FI/AT se renombró posteriormente ya que al principio nos referíamos a él como conversión por “nefropatía crónica del injerto”. Quizás esta denominación no haya sido del todo correcta por utilizar un término básicamente histológico, no disponiendo de biopsias en todos los casos.

La situación inmunológica del paciente tampoco pudo ser recogida en este estudio, aunque se puede inferir con bastante aproximación que siendo el 85% primeros trasplantes, casi todos eran pacientes no sensibilizados en el momento del trasplante. Desgraciadamente, tampoco se recogieron datos sobre formación de anticuerpos anti-HLA, entre otros motivos porque la determinación por Luminex® del *Single Antigen* no era tan asequible como actualmente. En este sentido, Ruiz y col.<sup>272</sup> analizaron 184 trasplantados convertidos a i-mTOR pertenecientes a esta cohorte, realizándose *a posteriori* anticuerpos anti-HLA por Luminex® pre-conversión y 3-6 meses post-conversión, y comparándolos con un grupo control con ICN no convertidos. Se observó que la conversión a i-mTOR podía favorecer la formación de anticuerpos anti-HLA *de novo* especialmente en aquellos pacientes que ya tenían algún anticuerpo anti-HLA preconversión, y que estos trasplantados que desarrollaban anticuerpos anti-HLA *de novo* presentaban peor función del injerto a los 2 años post-conversión y peor supervivencia del injerto<sup>272</sup>.

En el diseño de la base de datos no se contempló la recogida de viremia/viruria ni el seguimiento de la misma, ni para CMV ni para BKV, ya que inicialmente, este dato no estaba implementado en la práctica habitual de los hospitales. Sin embargo, podemos decir que casi todos los pacientes convertidos por infección recidivante o enfermedad por CMV se consiguió la curación, dato que apoya el papel fundamental de i-mTOR en la infección por CMV <sup>218, 220, 227, 228</sup>. En cuanto a las conversiones realizadas por infección por BKV, en la mayoría de los pacientes se consiguió la remisión de la misma, de manera que el grupo del Hospital Clínico San Carlos publicó una serie con parte de esta cohorte de pacientes en la que demostró que la conversión a i-mTOR disminuyó de forma rápida la viremia y que los pacientes convertidos experimentaron una mejoría de la función renal sin datos de rechazo agudo<sup>246</sup>, dato importante a tener en cuenta al no estar del todo consensuado el tratamiento para la infección por BKV, habiendo datos a favor de la conversión a i-mTOR<sup>256</sup>, y en contra de la misma<sup>258</sup>.

## **6.1 PACIENTES CON MAYOR BENEFICIO EN TÉRMINOS DE MEJORÍA DE FUNCIÓN RENAL TRAS LA CONVERSIÓN A I-MTOR.**

La mayoría de las conversiones a i-mTOR en nuestra cohorte de pacientes trasplantados se realizaron de manera tardía. Durante los primeros años de uso de estos fármacos, la relación entre función renal /proteinuria basales y evolución tras el cambio a i-mTOR no estaba tan asentada en la literatura médica como lo estuvo posteriormente tras los resultados arrojados por los ensayos clínicos realizados <sup>92,93,95,179-186</sup>. Aún con

todo, las conversiones se realizaron con unos filtrados glomerulares estimados por CKD-EPI medios mayores de 40 mL/min y proteinurias medias menores de 300 mg/día.

En el análisis *por intención de tratar* de todo el grupo no se observan cambios significativos en el filtrado glomerular al año, observando sin embargo un aumento de proteinuria al tercer mes del cambio que se mantuvo estable e inferior a 500 mg/día durante el seguimiento posterior en la mayoría de ellos. Realizando el mismo análisis pero por causas de conversión observamos cómo en los pacientes con FI/AT establecida en el momento de la conversión (no necesariamente biopsiados, como ya explicamos anteriormente), la caída del filtrado glomerular se enlentece tras la conversión a i-mTOR, aunque la proteinuria en estos pacientes aumenta de forma significativa, datos superponibles a los del estudio CONVERT<sup>92</sup>. De hecho, aunque los pacientes catalogados de FI/AT en el momento de la conversión (158 pacientes), pudieron no serlo en algún caso, únicamente se pierde el injerto en 28 casos por rechazo crónico humoral biopsiado y en 87 pacientes por FI/AT también biopsiada.

Los pacientes que más se benefician de la conversión a i-mTOR en términos de mejoría de filtrado glomerular son los convertidos a i-mTOR por enfermedad cardiovascular severa y/o clínicamente relevante. En los trasplantados renales con enfermedad cardiovascular importante se observa cómo en los meses pre-conversión el CKD-EPI disminuye de una forma importante y cómo tras la conversión el CKD-EPI mejora claramente.

En el análisis de regresión logística los factores pronósticos de mejoría de función renal al año de la conversión a i-mTOR son los clásicos de todos los ensayos<sup>92 93 95 179-186</sup>: la función renal y la proteinuria en el momento basal. Los pacientes con un CKD-EPI

>45 mL/min/1,73m<sup>2</sup> presentaban más del doble de probabilidades de mejorar el CKD-EPI  $\geq$ 5mL/min/1,73m<sup>2</sup> al año de la conversión, que aquéllos que se convertían con CKD-EPI  $\leq$ 45 mL/min/1,73m<sup>2</sup> (p=0,020). Igualmente, la proteinuria basal se comporta como un factor pronóstico muy importante, de manera que los trasplantados convertidos sin proteinuria tuvieron cinco veces más probabilidades de mejorar el filtrado glomerular al año que los que se convirtieron con proteinuria >500 mg/día (p<0,001); si la conversión se hacía con una proteinuria intermedia (300-500 mg/día) las probabilidades de mejoría de filtrado glomerular eran el triple (p=0,022). Estos datos sobre la importancia de la proteinuria en el momento de la conversión para lograr un buen resultado de la misma ya fueron publicados por el Dr Ruiz en el 2006<sup>191</sup> tras el análisis de parte de esta cohorte de pacientes. Un par de años antes, Diekmann y col.<sup>146</sup>, establecieron el punto de corte de la proteinuria en 800 mg/día, por debajo del cual el valor predictivo positivo fue de 90% para predecir una evolución favorable tras la conversión a SRL, de igual forma esta proteinuria <800 mg/día también se asoció con una mejor supervivencia del injerto<sup>190</sup>. Posteriormente (en el año 2012) y ampliando la serie de pacientes publicados en el 2006, la Dra. Sánchez-Fructuoso y el Dr. Ruiz publicaron que los pacientes con proteinuria basal >550 mg/día tenían más riesgo de desarrollar proteinuria >900 mg/día al año de la conversión a i-mTOR y mayor riesgo de pérdida de injerto<sup>148</sup>. Corroborando estos datos ya publicados, en nuestro estudio la proteinuria >500 mg/día se comporta como factor de riesgo para pérdida de injerto (p<0,001).

Otros factores pronósticos de mejoría de función renal al año de la conversión a i-mTOR que aparecen en el análisis multivariado son: pérdida de filtrado glomerular en los tres meses pre-conversión, conversiones por enfermedad cardiovascular y

conversiones por enfermedad tumoral. Los trasplantados renales convertidos a i-mTOR por enfermedad cardiovascular severa y/o clínicamente relevante son los que se más se benefician de la conversión en términos de mejoría de función renal al año del cambio; esto se debe en parte a los cambios hemodinámicos secundarios a la suspensión de ICN, disminuyendo la resistencia de la arteriola aferente y aumentando la presión intraglomerular<sup>143 144</sup>, con un aumento del filtrado glomerular y en muchas ocasiones, la consecuente elevación de la proteinuria. Es posible que estos cambios observados en la hemodinámica intrarrenal sean más “visibles” en pacientes vasculópatas. Además, esta mejoría observada en la función renal al año de iniciar i-mTOR en los pacientes con patología cardiovascular severa también puede ser explicada por el beneficio cardiovascular neto que ofrecen estos fármacos ampliamente probado en la literatura científica<sup>201-204</sup>.

La edad a la conversión se comporta como un factor protector: cuanto mayor edad a la conversión más posibilidades de mejorar función renal, o lo que es lo mismo, cuanto más joven al la conversión peor pronóstico en cuanto a función renal, posiblemente debido a disponer de un sistema inmunológico más competente. Por último, los pacientes sin hipercolesterolemia en el momento de la conversión tienen más probabilidades de mejorar la función renal al año de la misma, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas ( $p=0,09$ ), dato que más adelante veremos que también se relaciona con la supervivencia del injerto, algo poco conocido aunque ya publicado<sup>273 274</sup>.

El tiempo a la conversión en nuestra cohorte de pacientes no actuó como factor pronóstico como en la mayoría de los ensayos<sup>94</sup> **¡Error! Marcador no definido..** Aunque s

í se observó en el análisis univariado una tendencia a una conversión más exitosa cuanto antes se realizaba, las diferencias distaron mucho de la significación estadística, probablemente porque el tiempo mediano a la conversión fue de 50 meses, y estas diferencias se objetivan en tiempos más cortos postrasplante. Probablemente la conversión a i-mTOR hubiera redundado en mayor beneficio de función renal cuanto más precozmente se hubiera realizado.

Es posible que los resultados obtenidos del análisis de esta cohorte de pacientes hubieran mejorado si se hubiera podido estudiar el potencial riesgo inmunológico de los mismos en el momento de la conversión, tanto con la detección y/o monitorización de anticuerpos anti-HLA, como con el estudio histológico en todos los casos de deterioro insidioso de función renal. Como apuntábamos antes, el 85% de los trasplantes eran primeros trasplantes y de esta manera asumíamos que no estuvieran sensibilizados en el momento del trasplante, pero la asunción se hace más difícil (imposible) en el momento de la conversión, meses y años después del trasplante.

## 6.2 SUPERVIVENCIA

Recientemente, Modelli de Andrade y Tedesco-Silva han publicado una revisión de los principales estudios que demuestran un mayor riesgo de pérdida de injerto y de mortalidad de paciente en aquellos trasplantados tratados con i-mTOR con/sin ICN, ya sea *de novo* o en conversión<sup>275</sup>. La mayoría de estos estudios utilizaban dosis altas de i-mTOR junto con dosis estándar de ICN, o dosis altas de i-mTOR combinado con micofenolato, prácticas ya en desuso desde hace años. La crítica de la revisión se basa

fundamentalmente en los protocolos utilizados, en que varios de los estudios se hicieron con las mismas bases de datos, y en la gran desproporción de pacientes tratados con i-mTOR vs regimen estándar ICN-micofenolato, difícilmente salvable con las pruebas estadísticas utilizadas. En estudios prospectivos más recientes, con seguimientos entre 2-8 años, no se han encontrado diferencias en la incidencia de pérdida de injerto o muerte, ya sea con el uso combinado de i-mTOR-ICN<sup>256 276</sup> o con estrategias de conversión precoz de ICN a i-mTOR<sup>180 184 186</sup>.

Como dijimos al principio, la mayor limitación de esta Tesis Doctoral es no disponer de un brazo control tratado de forma indefinida con la triple terapia convencional consistente en ICN + MMF/MPA + esteroides. Realizar esta comparativa es muy complicado dadas las causas de conversión establecidas. Por este motivo hemos comparado nuestros datos con una población de trasplantados renales contemporánea y de similares características basales, tratada en su mayoría con ICN (84,5% bajo terapia inmunosupresora con ICN, únicamente el 3,1% estaba con SRL). En esta publicación de Ojo AO y col.<sup>271</sup> se analizaron 3808 pacientes trasplantados en los años 1990, 1994, 1998 y 2002, con injertos renales de donantes fallecidos todos ellos, funcionantes al menos 1 año, con un filtrado glomerular estimado por MDRD-4 al año del trasplante de 50,6mL/min/1,73m<sup>2</sup>, y con un seguimiento hasta 2006. El PRA al momento del trasplante fue <10% en el 74,3% de los pacientes, y entre 80-100% solo en el 0,3% de los pacientes.

### 6.2.1 SUPERVIVENCIA DEL INJERTO.

Al analizar la supervivencia del injerto censurando la muerte de nuestra cohorte de pacientes trasplantados renales convertidos a i-mTOR a los 10 años (de la conversión) fue de 71,8%. No hemos de olvidar que estamos analizando pacientes trasplantados sin una evolución favorable, que fueron sometidos a otro tipo de inmunosupresión con el fin de mitigar o enlentecer ese mal pronóstico teórico que de seguir con el ICN padecerían. En la publicación de Ojo AO y col. antes referida<sup>271</sup>, la supervivencia del injerto a los 10 años (del trasplante) en la cohorte española fue de 71,3%, y de 75,6% al censurar la muerte, muy cercana a los datos de nuestra cohorte de pacientes “marcados” por una teórica mala evolución. Además, es probable que en el trabajo de Ojo et al los datos sean aún mas desfavorables, ya que siendo la mediana de seguimiento a cuatro años dan resultados de supervivencia a diez años, hecho no adecuado desde el punto de vista estadístico. .

Durante el seguimiento de nuestra cohorte de pacientes se perdieron 136 injertos (21,4%), de los cuales 64% se debieron a FI/AT y 20,6% a rechazo crónico humoral. Observamos cómo nuestros injertos se pierden mayormente por la mal llamada “*nefropatía crónica del injerto*”, pudiendo diferenciar las dos entidades que forman parte de ella: la pérdida por FI/AT sin causa específica y el rechazo crónico humoral<sup>24</sup>.

Al realizar un análisis de regresión logística para identificar los factores de riesgo para pérdida de injerto renal, obtenemos los mismos factores de riesgo descritos en la literatura<sup>92 189</sup>. Los pacientes con un CKD-EPI basal  $<45\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$  tienen mucho más riesgo de perder el injerto que aquellos con CKD-EPI basal mayor ( $p<0,001$ ), y los



mismo ocurre con la proteinuria basal, de forma que la proteinuria >500 mg/día en el momento de la conversión tiene más del doble de probabilidades de perder el injerto ( $p<0,001$ ).

El hecho de que la hipercolesterolemia basal se relacione de forma independiente con la pérdida del injerto nos sorprendió por la difícil explicación a priori del mismo. Según las referencias bibliográficas escasas sobre este hecho, Covic y col.<sup>273</sup> lo justifican por el hecho de que la hipercolesterolemia es un factor de riesgo cardiovascular fuertemente reconocido. Estos autores revisan la mortalidad en una población trasplantada renal centrándose sobre todo en los principales factores de riesgo cardiovascular (cardiopatía isquémica, hipercolesterolemia, tabaquismo e hiperhomocisteinemia) y concluyendo que la presencia de estos factores y la alta prevalencia de patología cardíaca y vascular de los pacientes en diálisis, están estrechamente relacionadas con los resultados de estos pacientes en el período postrasplante<sup>273</sup>. En otro estudio polaco publicado en el 2003<sup>274</sup>, se analizó una cohorte de 336 pacientes trasplantados entre 1993 y 2000 con injerto funcionante al año del trasplante. Todos ellos estuvieron en triple terapia inmunosupresora con CsA, antiproliferativo (90% azatioprina y 10% micofenolato) y esteroides. Durante el primer año del trasplante, se produjo rechazo agudo en el 39,8% de los pacientes e hipercolesterolemia en el 39,2%. El seguimiento realizado fue de 5 años. Se analizaron 2 grupos: los pacientes con rechazo agudo e hipercolesterolemia presentaron cifras de creatinina plasmática a los 5 años más elevadas y la pérdida del injerto en este grupo aumentó a más del doble en comparación con el grupo de pacientes con rechazo agudo

y niveles de colesterol normal que presentaron cifras de creatinina normales a los 5 años y pérdida del injerto en mucha menor proporción<sup>274</sup>.

Finalmente, la edad a la conversión a i-mTOR se comporta en este caso como factor protector posiblemente porque aumente la mortalidad con injerto funcionando y porque cuanto más joven más activo es su sistema inmunitario [por cada año el HR fue de 0,98 (0,968-0,995);  $p=0,006$ ], y la suspensión de i-mTOR como un factor de riesgo para la pérdida del injerto [HR1,77(1,25-2,52);  $p<0,001$ ], posiblemente porque se trata de injertos con muy mal pronóstico y deterioro de función renal progresivo que en muchos casos hizo suspender el i-mTOR en las etapas finales del trasplante.

En este análisis multivariado tampoco aparece significativo el tiempo a la conversión como hubiese sido de esperar según la literatura<sup>94</sup> **¡Error! Marcador no definido.**, probablemente por lo mismo que apuntábamos antes en el análisis de la mejoría del filtrado, porque el tiempo mediano a la conversión fue de 50 meses, y estas diferencias se ven en tiempos más cortos.

Merece la pena destacar los siguientes datos del análisis univariado. Los pacientes convertidos por FI/AT tuvieron mayor riesgo de perder el injerto que los convertidos por otras causas, guardando esto mucha relación posiblemente con el CKD-EPI y la proteinuria basales con los que se convirtieron (34,32mL/min/1,73m<sup>2</sup> y 444mg/día, respectivamente), superiores a los valores recomendados en la mayoría de los estudios<sup>92 189</sup>. Además, el hecho de haber agrupado en esta causa de conversión pacientes inicialmente catalogados como “nefropatía crónica del injerto” (con y sin sustento histológico), durante tantos años en los que los criterios de la clasificación de Banff y los conocimientos inmunológicos del trasplante evolucionaron de una forma tan

notable, puede estar casi con seguridad detrás de esta mala evolución del injerto, tanto en términos de supervivencia como de no mejoría de función renal y aumento de proteinuria. Si realizamos un análisis simplista de nuestro grupo de pacientes trasplantados podemos dividirlos en dos grupos: los que se convierten a i-mTOR por deterioro de función renal y los que se convierten por otros motivos manteniendo una función renal estable. Aunque la pérdida de filtrado glomerular antes de la conversión se asocia en nuestro análisis con mejoría de función renal al año de la conversión, es posible que la supervivencia del injerto sea menor en este grupo de pacientes, aunque con la conversión a i-mTOR hayamos alargado dicha supervivencia. Una vez más, al no disponer de grupo control no podemos afirmar dicho beneficio.

Observamos también en este análisis univariado que la estrategia preventiva no influye en la posibilidad de perder el injerto, posiblemente porque la serie de pacientes convertidos por esta causa era muy pequeña. Además, el criterio para convertir a un paciente a i-mTOR de forma preventiva no era el que se utilizaría hoy en día. En ese momento, únicamente disponíamos de la función renal y de la proteinuria para determinar que un paciente estaba “en buenas condiciones” para tolerar una conversión a i-mTOR, no tan solo de forma preventiva, sino sin ningún riesgo de mala evolución posterior. A ningún enfermo se le realizó estudio de anticuerpos anti-HLA dado que en esos años el concepto de rechazo humoral se estaba gestando, y por supuesto la técnica para determinar dichos anticuerpos tampoco se hacía de rutina. Es posible que alguno de los trasplantados convertidos a i-mTOR de forma preventiva no fueran bien por la aparición/potenciación de anticuerpos anti-HLA post-conversión<sup>272</sup>.

Tampoco existen diferencias en la pérdida del injerto entre los primeros trasplantes y los retrasplantes, ni entre los pacientes en terapia combinada ICN-i-mTOR y los que se mantuvieron sólo con i-mTOR-micofenolato. Lo primero puede ser debido a un sesgo de selección, en cuanto a que se convirtieron a i-mTOR únicamente retrasplantes sin riesgo inmunológico elevado. Lo segundo, una vez más, puede tener que ver con el pequeño tamaño muestral de este subgrupo, únicamente 15 pacientes estuvieron en terapia combinada con ICN-imTOR.

---

#### **6.2.2 SUPERVIVENCIA DEL PACIENTE.**

La supervivencia del paciente trasplantado renal publicada por Ojo AO y col <sup>271</sup> fue 86,2% a los 10 años en la cohorte española y 67,4% en la cohorte estadounidense. En nuestra cohorte la supervivencia del paciente trasplantado renal convertido a i-mTOR fue 66,6% a los 10 años (de la conversión), datos muy positivos si tenemos en cuenta que la principal causa de conversión fue la enfermedad tumoral, y que casi el 50% de estos tumores fueron tumores de órgano sólido. Dado que los tumores de órgano sólido y los tumores hematológicos son los tumores con mayor peso específico para mortalidad, por número y gravedad, y además no están relacionados claramente con la inmunosupresión, realizamos un análisis de supervivencia del paciente, excluyendo aquellos trasplantados fallecidos por estos tumores; la supervivencia del paciente a los 10 años de la conversión ascendió a 71,5%.

De las 173 muertes que hubo durante el seguimiento, casi las dos terceras partes se debieron a causa tumoral y cardiovascular, que son las causas más importantes de

exitus en trasplante renal a largo plazo como ha sido descrito en casi todas las series publicadas hasta el momento<sup>1 9 50-52</sup>.

En el análisis de regresión logística los factores que se relacionan con la mortalidad del paciente en nuestra serie fueron: edad a la conversión, retrasplantes, proteinuria basal >500 mg/día, pacientes diabéticos como enfermedad renal crónica de base, y aquellos trasplantados convertidos a i-mTOR por causa tumoral y por causa cardiovascular severa o clínicamente relevante.

Los pacientes convertidos a i-mTOR por causa tumoral se asocian a mayor riesgo de mortalidad y a menor riesgo de pérdida del injerto, es decir que fallecen con injerto funcionando en la mayor parte de los casos, ratificando los datos reportados en la bibliografía<sup>51 52</sup>. Cuando analizamos la función supervivencia por tipo de tumor la supervivencia fue peor para los pacientes convertidos por tumor de órgano sólido y por tumor cutáneo no melanoma. En este último caso resulta difícil de explicar por qué los pacientes con tumores cutáneos no melanocíticos tienen peor supervivencia, ya que este tipo de tumores, además de ser los menos agresivos, son los que más relacionados están con el tipo de inmunosupresión<sup>210 211</sup>. La explicación más probable en este caso hay que buscarla en la edad a la conversión y en el tiempo que llevaban trasplantados al inicio de i-mTOR: los pacientes convertidos por tumores cutáneos no melanomas tenían más años de edad que el resto de pacientes convertidos por otros tumores (64,77 años vs 58,51 años) y llevaban más tiempo trasplantados en el momento de la conversión, es decir más tiempo sometidos a terapia inmunosupresora (121,87 meses vs 78,82 meses). En el resto de los casos convertidos a i-mTOR por tumor, la curva de supervivencia es consecuente con lo ya aportado por otras publicaciones: peor

supervivencia para los tumores de órgano sólido no relacionados claramente con los ICN<sup>210 211 218</sup>, y para los tumores hematológicos en los que también existe controversia al respecto<sup>52 219 221 261 262</sup>; sin embargo, hubo 3 conversiones a i-mTOR por PTLD relacionada con VEB, obteniendo la curación del síndrome linfoproliferativo en todas ellas. En cuanto a los 9 casos de sarcoma de Kaposi también se curaron todos, dato absolutamente contundente como los de las series de casos publicadas hasta el momento<sup>263 264</sup>.

Los pacientes convertidos a i-mTOR por causa cardiovascular severa o clínicamente relevante también presentan un riesgo de muerte aumentado, a pesar de todo lo publicado con respecto al mejor perfil cardiovascular de i-mTOR frente a ICN, tanto en el menor desarrollo de HTA <sup>201</sup>, como en ser menos diabetógenos (aunque su papel en la diabetes ciertamente es bastante controvertido<sup>206</sup>). Aunque los i-mTOR pudieran mejorar el perfil cardiovascular con respecto a los ICN, en sujetos con patología cardiovascular establecida revertir el daño ocasionado por la misma resulta altamente complicado. Sin embargo, al analizar un “endpoint” menos exigente como es la supervivencia del injerto, los trasplantados convertidos a i-mTOR por causa cardiovascular pierden menos el injerto que los convertidos por otras causas, aunque no de forma estadísticamente significativa. Quizás esto se deba a que estos pacientes fallecen antes de perder el injerto (muerte con injerto funcionando), aunque también puede ser justificado porque a nivel local (injerto renal) la retirada de ICN e inicio de i-mTOR resulte beneficiosa en cuanto a los daños derivados de la HTA y/o de la DM. Aunque en esta cohorte de enfermos no se recogieron estudios ecocardiográficos, estos resultados de supervivencia del paciente pueden traslucir lo ya referido en la bibliografía

en cuanto a la no reducción del índice de masa del ventrículo izquierdo en la rama i-mTOR vs ICN, tanto en el estudio español EVITA<sup>204</sup> como en el estudio ELEVATE<sup>95</sup>.

Los enfermos diabéticos presentan más del doble de probabilidades de fallecer que los no diabéticos; tanto la diabetes como la enfermedad cardiovascular son en sí mismas patologías que confieren una elevada mortalidad <sup>1</sup>, por lo que si a eso le sumamos la condición de trasplante renal el riesgo de mortalidad por eventos cardiovasculares aumenta muchísimo. La edad a la conversión también se relaciona con la mortalidad como era de esperar. La proteinuria basal >500 mg/día también se comporta como un factor de riesgo de mortalidad posicionándose de esta manera además de como factor determinante de la buena evolución del injerto tras la conversión<sup>92 146 190 191</sup> como factor de riesgo determinante de la evolución del paciente. Por último, la condición de retrasplante, que no aparece como factor de riesgo en el análisis univariado, se introdujo como variable clínicamente significativa en el análisis multivariado, comportándose como un claro factor de riesgo de mortalidad del paciente: los retrasplantes tenían más de un 50% de probabilidad de muerte que los primeros trasplantes. Esto se explica por tener mayor riesgo cardiovascular (al llevar más tiempo con enfermedad renal crónica y con terapia inmunosupresora), y por tener mayor riesgo de infecciones y tumores por la carga inmunosupresora acumulada.

### **6.3 VARIABILIDAD DE I-MTOR**

Apoyándonos en varios trabajos sobre todo con ICN<sup>80 81 84</sup> estudiamos la variabilidad de i-mTOR y su influencia en la supervivencia del trasplante renal a medio-

largo plazo, estudio cuyos resultados se han presentado en varios congresos nacionales e internacionales y que ha dado lugar a una publicación<sup>90</sup>. Este análisis se llevó a cabo en un subgrupo de pacientes acotado en el tiempo, como el fin de eliminar el posible sesgo de variabilidad intrínseca de los distintos métodos de detección de niveles plasmáticos de inmunosupresores utilizados a lo largo de todo el seguimiento.

El primer dato que observamos fue que el coeficiente de variabilidad medio de SRL es más bajo que el de EVE, y que esta diferencia aumenta aún más al analizar por separado las conversiones precoces y las tardías. El hecho de que SRL presente un coeficiente de variabilidad más bajo que EVE no ha tenido implicaciones pronósticas en nuestra serie. Sí parece importante destacar que, dado que el principal factor que influye en la variabilidad observada en los niveles plasmáticos de los inmunosupresores es la adherencia terapéutica<sup>80 81</sup>, podemos hipotetizar que esta falta de adherencia terapéutica a SRL tenga una repercusión menor que el mismo grado de incumplimiento terapéutico con EVE, puesto que la semivida de SRL en pacientes trasplantados renales estables es de 60 horas aproximadamente mientras que la de EVE es de casi 30 horas. Sin embargo, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas al comparar SRL vs EVE en la pérdida de injerto censurando la muerte.

Finalmente, al comparar los pacientes del tercil de mayor coeficiente de variabilidad con los pacientes de los dos primeros terciles se observa que los pacientes con mayor CV son pacientes más mayores, posiblemente más polimedicados y en mayor proporción tratados con EVE, además de presentar una supervivencia del injerto censurando la muerte peor que los pacientes pertenecientes a los dos primeros terciles de CV. Lamentablemente, no hemos podido analizar si existe relación entre la



variabilidad de i-mTOR y el desarrollo de anticuerpos anti-HLA, como sí está descrito con ICN<sup>84</sup>.

## **6.4 EFECTOS ADVERSOS/TASA DE SUSPENSIÓN**

Uno de los caballos de batalla con los fármacos i-mTOR ha sido siempre su tasa de suspensión por efectos adversos, claramente más elevada en manos inexpertas por su peculiar manejo (sobre todo al inicio de la conversión) y con un perfil de seguridad muy dependiente del momento post-trasplante a la conversión, de las comorbilidades del paciente, y de la terapia concomitante con otros inmunosupresores.

En nuestra cohorte de pacientes la tasa global de suspensión es 40,6%, ocurriendo casi la mitad de ellas durante el primer año, lo cual coloca la tasa de suspensión en el primer año post-conversión en 18,4%, cifra muy comparable e incluso mejor que la reportada en los ensayos clínicos realizados. Tras el primer año en 15 pacientes se suspende i-mTOR de forma electiva por cirugía programada o por deseo gestacional, lo que coloca la tasa de suspensión tras el primer año en 19%. Teniendo en cuenta el seguimiento realizado de más de 6 años de mediana post-conversión, i-mTOR se ha podido mantener en nuestra cohorte de pacientes sin grandes problemas.

Es importante destacar que los pacientes que precisan suspender i-mTOR en los 6 primeros meses presentan un peor evolución de función renal que aquellos pacientes que continúan con dicho fármaco. La suspensión de i-mTOR por efectos adversos es un factor de riesgo de pérdida de injerto.

Claramente el motivo más importante de retirada de i-mTOR en nuestra serie han sido las neumonitis, con una incidencia similar a la reportada en la bibliografía<sup>156 160</sup>. Se observan dos picos temporales en la suspensión: casi la mitad de ellas ocurren en los primeros 6 meses post-conversión y el 26,8% ocurren más allá del mes 36º post-conversión. Tal y como queda plasmado en la literatura científica, la aparición de estas neumonitis tiene lugar típicamente dentro de los 2-6 meses tras el inicio de i-mTOR<sup>154</sup>, por lo que podría explicarse un primer pico de incidencia durante los primeros 6 meses por un efecto de clase de i-mTOR, y un segundo pico de incidencia quizás favorecido por infecciones pulmonares concomitantes y/o patología pulmonar subyacente que va progresando, facilitando la aparición de esta neumonitis no infecciosa secundaria a i-mTOR. Por este motivo, es muy importante valorar (con mayor atención) el cambio a i-mTOR en pacientes con alguna neumopatía de base que pudiera precipitar la aparición de NIP.

Casi un tercio de las causas de suspensión han sido por causa nefrológica y estas suspensiones se han realizado por igual a lo largo de todo el seguimiento. Si bien es cierto que existe un aumento de la proteinuria al inicio de la terapia con i-mTOR, este aumento ocurre en los primeros 3-6 meses manteniéndose estable después, al igual que lo reportado hasta el momento<sup>191 277</sup>. La proteinuria ha sido causa de suspensión en 17,8% de los pacientes, el deterioro de función renal en 7,8%, y el rechazo agudo histológico ha obligado a suspender i-mTOR en 2,7% de los pacientes (3 de los 17 pacientes con BPAR perdieron el injerto).

El edema también ha sido un efecto adverso frecuente y mantenido en el tiempo tras la conversión, pero por el que prácticamente no ha habido que suspender el

fármaco, al igual que las mucositis orales, las erupciones cutáneas y la anemia, tal y como está reportado en la bibliografía<sup>91 126</sup>.

A pesar de aumentar los requerimientos de tratamiento hipolipemiante y de AEEs al año de la conversión, no ha habido que lamentar ninguna suspensión por dislipemia, y tan sólo 7 pacientes tuvieron que abandonar el tratamiento con i-mTOR por anemia refractaria. Igualmente, cabe destacar que no ha habido suspensiones por problemas de herida quirúrgica/linfocelos (como era de esperar dado el momento de la conversión), por microangiopatía trombótica, por diabetes mal controlada, ni por angioedema.



## **7 CONCLUSIONES**

1. Los pacientes trasplantados renales que más se benefician de la conversión a i-mTOR en términos de mejoría de función renal son aquéllos que presentan una buena función renal (CKD-EPI > 45mL/min/1,73m<sup>2</sup>) y ausencia de proteinuria o proteinuria ligera (<500 mg/día) en el momento de la conversión.
2. La evolución de la función renal previa a la conversión, la edad del paciente a la conversión y las cifras de colesterol total son otros marcadores pronósticos de mejoría de función renal tras la conversión.
3. La mejoría de la función renal tras la conversión es más frecuente en aquellos pacientes convertidos por causa tumoral o cardiovascular.
4. No hay diferencias en la evolución de la proteinuria según la causa de conversión.
5. La función renal y la proteinuria basales se correlacionan con la supervivencia del injerto a largo plazo, de la misma forma que con la mejoría de la función renal (conclusión 1).
6. La hipercolesterolemia en el momento de la conversión y la suspensión del fármaco por efectos adversos se correlacionan también con la supervivencia del injerto a largo plazo.

7. La diabetes como enfermedad renal de base, la neoplasia maligna o la enfermedad cardiovascular severa como causas de conversión, el retrasplante, la edad del paciente a la conversión y la proteinuria basal se correlacionan además con la supervivencia del paciente.

8. La conversión a i-mTOR en pacientes con infecciones víricas activas se asocia con frecuencia con una mejoría clínica y/o virológica.

9. La neumonitis intersticial no infecciosa es la principal causa de suspensión de i-mTOR y un evento adverso potencialmente grave que puede ocurrir tanto en fases tempranas como en fases tardías de la conversión.

10. No se puede demostrar correlación entre el coeficiente de variabilidad de los niveles de i-mTOR y la supervivencia del injerto, aunque es probable que exista.

11. Sirolimus presenta un coeficiente de variabilidad más bajo que everolimus sin que se observen diferencias significativas en la supervivencia del injerto entre los dos fármacos.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

- <sup>1</sup> Pilmore H, Dent H, Chang S, McDonald SP, Chadban SJ. Reduction in cardiovascular death after kidney transplantation. *Transplantation* 2010; 89: 851-857
- <sup>2</sup> Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004; 351(26):2715-2729.)
- <sup>3</sup> Young BY, Gill J, Huang E, et al. Living donor kidney versus simultaneous pancreas-kidney transplant in type I diabetics: an analysis of the OPTN/UNOS database. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 845-852
- <sup>4</sup> Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000; 342(9):605-612
- <sup>5</sup> Lodhi SA, Lamn KE, Meier\_Kriesche HU. Solid organ allograft survival improvement in the United States: the long-term does not mirror the dramatic short-term success, *Am J Transplant* 2011; 11:1226-1235
- <sup>6</sup> Halloran PF, Langone AJ, Helderman JH, Kaplan B. Assessing long-term nephron loss: is it time to kick the CAN grading system? *Am J Transplant* 2004; 4:1729–1730)
- <sup>7</sup> Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004; 4(3):378-383
- <sup>8</sup> Ojo AO, Hanson JA, Wolfe RA, Leichtman AB, Agodoa LY, Port FK. Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int* 2000; 57(1):307-313
- <sup>9</sup> Meyer MM, Norman DJ, Danovitch GM. Long-term post-trasnplant management and complications. In: Danovitch GM, editor. *Handbook of Kidney Transplantation*. 2ª de. Boston: Little, Brown and Company; 1996. p. 154-186
- <sup>10</sup> Meier-Kriesche HU, Schold JD, Kaplan B. Long-term renal allograft survival: have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies? *Am J Transplant* 2004; 4(8):1289-1295
- <sup>11</sup> Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolkoff-Rubin N, Cosimi AB. Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med* 2002; 346(8):580-590
- <sup>12</sup> Hernández D, Sánchez-Fructuoso A, González-Posada JM, et al. A novel risk score for mortality in renal transplant recipients beyond the first posttransplant year. *Transplantation* 2009; 88: 803-809
- <sup>13</sup> Rodrigo E, Miñambres E, Ruiz JC, et al. Prediction of delayed graft function by means of a novel web-based calculator: a single-center experience. *Am J Transplant* 2012; 12:240-244
- <sup>14</sup> Shrestha B, Haylor J. Evolution of the concept and pathogenesis of chronic renal allograft injury: an update review. *Exp. Clin Transplant*. 2016;6:596-605

- 
- <sup>15</sup> Pascual J, Alonso A, Burgos D, Cruzado JM, Serón D, Grupo Español de Consenso sobre Disfunción Renal Crónica en Pacientes Trasplantados Renales. Disfunción renal crónica en pacientes transplantados renales. Documento de consenso. *Nefrologia* 2012;32(Suppl.2):1-28
- <sup>16</sup> Cornell LD, Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2005;14(3):229-234
- <sup>17</sup> Hume D, Merrill J, Millar B. Experiences with renal homotransplantation in man modified recipients. *L Clin Invest*. 1955;34:327
- <sup>18</sup> Porter K, Thomson WB, Owen K et al. Obliterative vascular changes in four human kidney homotransplants. *BMJ*. 1963;2(5358):639-645
- <sup>19</sup> Jeannet M, Pinn VW, Flax MH et al. Humoral antibodies in renal allotransplantation in man. *N Engl J Med*. 1970;282:111-117
- <sup>20</sup> Halloran PF. Call for revolution: a new approach to describing allograft deterioration. *Am J Transplant*. 2002;2(3):195-200
- <sup>21</sup> Paul LC. Chronic allograft nephropathy: An update. *Kidney Int*. 1999;56(3):783-793
- <sup>22</sup> Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int*. 1993;44(2):411-422
- <sup>23</sup> Halloran PF, Melk A, Barth C. Rethinking chronic allograft nephropathy: the concept of accelerated senescence. *J Am Soc Nephrol*. 1999;10(1):167-181
- <sup>24</sup> Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF, Birk PE, et al. Banff'05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy (CAN). *Am J Transplant* 2007;7:518-26
- <sup>25</sup> Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009;9(Suppl 3):S1-S157
- <sup>26</sup> Zhao SQ, Xue ZZ, Wang LZ. HMGB1, TGF- $\beta$  and NF- $\kappa$ B are associated with chronic allograft nephropathy. *Exp Ther Med*. 2017 Dec;14(6):6138-6146
- <sup>27</sup> 3C Study Collaborative Group. Campath, calcineurin inhibitor reduction, and chronic allograft nephropathy (the 3C Study)-results of a randomized controlled clinical trial. *Am J Transplant*. 2017 Dec 11
- <sup>28</sup> Maryniak RK, First MR, Weiss MA. Transplant glomerulopathy: evolution of morphologically distinct changes. *Kidney Int*. 1985;27(5):799-806
- <sup>29</sup> Weir MR, Wali RK. Minimizing the risk of chronic allograft nephropathy. *Transplantation*. 2009;87(8 Suppl):S14-S18
- <sup>30</sup> Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation*. 1998;66(12):1736-1740



- <sup>31</sup> Nankivell BJ, Chapman JR. Chronic allograft nephropathy: current concepts and future directions. *Transplantation* 2006; 81:643–654
- <sup>32</sup> Cosio FG, Grande JP, Larson TS, et al. Kidney allograft fibrosis and atrophy early after living donor transplantation. *Am J Transplant* 2005; 5:1130–1136
- <sup>33</sup> Ojo AO, Held PJ, Port FK, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003; 349:931–940
- <sup>34</sup> Tullius SG, Hancock WW, Heemann U, et al. Reversibility of chronic renal allograft rejection. Critical effect of time after transplantation suggests both host immune dependent and independent phases of progressive injury. *Transplantation* 1994; 58:93-99
- <sup>35</sup> Greenberg A, Egel JW, Thompson ME, et al. Early and late forms of cyclosporine nephrotoxicity: studies in cardiac transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 1987; 9:12–22
- <sup>36</sup> Vitalone MJ, O'Connell PJ, Jimenez-Vera E, et al. Epithelial-to-mesenchymal transition in early transplant tubulointerstitial damage. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19:1571–1583
- <sup>37</sup> Davies DR, Bittmann I, Pardo J. Histopathology of calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Transplantation* 2000; 69:SS11–SS13
- <sup>38</sup> Paul LC. Immunosuppressive drug-induced toxicities compromising the half-life of renal allografts. *Transplant Proc* 1998; 30:S7
- <sup>39</sup> Gerrits JH, van de Wetering J, Drabbels JJ et al. Non-HLA T-cell reactivity during the first year after HLA-identical living-related kidney transplantation. *Clin Transplant*. 2009;23(5):740-747
- <sup>40</sup> Suarez-Alvarez B, Lopez-Vazquez A, Diaz-Pena R, et al. Post-transplant soluble MICA and MICA antibodies predict subsequent heart graft outcome. *Transpl Immunol*. 2006;17(1):43-46
- <sup>41</sup> Aguilera I, Wichmann I, Gentil MA, Gonzalez-Escribano F, NunezRoldan A. Antibodies against the donor antigen glutathione S-transferase T1 after renal transplantation. *Transplant Proc*. 2005; 37(3):1457-1458
- <sup>42</sup> Reinsmoen NL. Role of angiotensin II type 1 receptor-activating antibodies in solid organ transplantation. *Hum Immunol*. 2013;74 (11):1474-1477
- <sup>43</sup> Zeiberg M, Duffield JS. Resolved: EMT produces fibroblasts in kidney. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(8):1247-1253
- <sup>44</sup> Vongwiwatana A, Tasanarong A, Rayner DC, et al. Epithelial to mesenchymal transition during late deterioration of human kidney transplants: the role of tubular cells in fibrogenesis. *Am J transplant*.2005;5(6);1367-1374
- <sup>45</sup> Albrecht EW, Stegeman CA, Tiebosch AT, et al. Expression of inducible and endothelial nitric oxide synthases, formation of peroxynitrite and reactive oxygen species in human chronic renal transplant failure. *Am J Transplant*. 2002;2(5):448-453
- <sup>46</sup> Djamali A. Oxidative stress as a common pathway to chronic tubulointerstitial injury in kidney allografts. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007;293(2):F445-F455

- 
- <sup>47</sup> Xion M, Elson G, Legarda D, et al. Production of vascular endothelial growth factor by murin macrophages: regulation by hipoxia, lactate and the inducible nitric oxide synthesis pathway. *Am J Pathol*. 1998;153:587-598
- <sup>48</sup> Siekierka-Harreis M, Kuhr N, Willers R et al. Impact of genetic polymorphisms of the rennin-angiotensin system and of non-genetic factors on kidney transplant function –a single-center experience. *Clin Transplant*. 2009;23(5):606-615
- <sup>49</sup> Hedor R, Asztalos L, Locsey L, et al. Insertion/Deletion polymorphism of angiotensin-converting enzyme as a risk factor for chronic allograft nephropathy. *Transplant Proc*. 2010;42(6):2304-2308
- <sup>50</sup> Kasiske BL, Zinder JJ, Gilbertson DT et al. Cancer alter kidney transplantation in the United Status. *Am J Transplant* 2004;4:905-913
- <sup>51</sup> Acuna SA, Fernández K A, Daly C et al. Cancer mortality among recipients of solid organ transplants in Ontario, Canada. *Journal of the American Medical Association Oncology* 2016;2(4):463-469
- <sup>52</sup> US Renal Data System. 2014 annual data report: epidemiology of kidney disease in the United States. *American Journal of Kidney Disease*, vol 66, supp 1, pp. S1-S306, 2015
- <sup>53</sup> Rigatto C, Parfrey P, Foley R, Negrijn C, Tribula C, Jeffery J. Congestive heart failure in renal trasnplant recipients: risk factors, otcomes, and relationship with ischemic heart disease. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(4):1084-1090
- <sup>54</sup> Lentine KL, Brennan DC, Schnitzler MA. Incidence and predictors of myocardial infarction after kidney trasnplantation. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(2):496-506
- <sup>55</sup> Marcen R, Morales JM, Fernández-Juárez G, Andres A, Pascual J, Rodicio JL, et al. Risk factors of ischemic heart disease after renal transplantation. *Tansplant Proc* 2002; 34(1):394-395
- <sup>56</sup> Meier-Kriesche HU, Baliga R, Kaplan B. Decrease renal function is a strong risk factor for cardiovascular death after renal transplantatio. *Transplantation* 2003; 75(8):
- <sup>57</sup> Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF, Jr, et al. Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA* 2011;306(17):1891–901
- <sup>58</sup> Piselli P, Serraino D, Segoloni GP, et al. Risk of de novo cancers after transplantation: results from a cohort of 7217 kidney transplant recipients, Italy 1997-2009. *Eur J Cancer*. 2013 Jan;49(2):336-44
- <sup>59</sup> Rama I, Grinyó JM. Malignancy alter renal transplantation: the role of immunosuppression. *Nature Reviewx Nephrology*, vol 6, no 9, pp. 511-519, 2010
- <sup>60</sup> Campistol J, Morales J. Manejo de tumores tras el trasplante renal. *Nefrología* 2009;29:33-45
- <sup>61</sup> Vegso G, Coth M, Hidvegi M,et al. Malignancies alter renal transplantation during 33 years at a single center. *Pathol Oncol Res* 2007;13:63-69
- <sup>62</sup> Buell JF, Gross TG, Woodle ES. Malignancy after transplantation. *Transplantation* 2005;80:S254-64

- <sup>63</sup> Ikones TS, Gummert JF, Hayase M, Honda Y, Hausen B, Christians U, et al. Sirolimus (rapamycin) halts and reverses progression of allograft vascular disease in non-human primates. *Transplantation* 2000; 70(6):969-975
- <sup>64</sup> Saurina A, Campistol JM; Lario S, Oppenheimer F, Diekmann F. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in kidney transplant patients reduces the urinary transforming growth factor-beta1 concentration. *Transplant Proc* 2007; 39(7): 2138-2141
- <sup>65</sup> Luan FL, Hojo M, Maluccio M, Yamaji K, Suthanthiran M. Rapamycin blocks tumor progression: unlinking immunosuppression from antitumor efficacy. *Transplantation* 2002; 73(10):1565-1572
- <sup>66</sup> Campistol JM, Cuervas-Mons V, Manito N, y col; ATOS Working Group. New concepts and best practices for management of pre- and post-transplantation cancer. *Transplant Rev (Orlando)* 2012;26(4):261-279
- <sup>67</sup> Sehgal SN, Baker H, Vezina C. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization. *J Antibiotic (Tokio)* 1975;28(10):727-732
- <sup>68</sup> Vezina C, Kudelski Am Sehgal SN. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J Antibiot (Tokio)* 1975;28(10):721-726
- <sup>69</sup> Matell RR, Klicius J, Galet S. Inhibition of the immune response by rapamycin , anew antifungal antibiotic. *Can J Physiol Pharmacol* 1977;55(1):48-51
- <sup>70</sup> Moes D.J.A. et al. Sirolimus and everolimus in kidney transplantation. *Drug Discovery Today*. 2015; 20(10):1243-1249
- <sup>71</sup> Vilella-Bach M, Nuzzi P, Fang Y, Chen J. The FKBP12-rapamycin-binding domain is required for FKBP12-rapamycin-associated protein kinase activity and G1 progression. *J Biol Chem* 1999; 274: 4266-4272
- <sup>72</sup> Chapman TM, Perry CM. Everolimus. *Drugs* 2004; 64: 861-872
- <sup>73</sup> Rodríguez Pérez JC. The role of mTOR inhibitors in renal diseases. *Nefrología*. 2011;31:251-255
- <sup>74</sup> Pérez Machín R, Rodríguez Díaz Y, Vega Hernández MC. La ruta mTOR como diana terapéutica. *BioCancer* 2006;3
- <sup>75</sup> Kovarik JM, Kalbag J, Figueiredo J, Rouilly M, Frazier OL, Rordorf C. Differential influence of two cyclosporine formulations on everolimus pharmacokinetics: a clinically relevant pharmacokinetic interaction. *J Clin Pharmacol* 2002; 42: 95-99
- <sup>76</sup> Stenton SB, Partovi N, Ensom MH. Sirolimus: the evidence for clinical pharmacokinetic monitoring. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44: 769-786
- <sup>77</sup> Mabasa VH, Ensom MH. The role of therapeutic monitoring of everolimus in solid organ transplantation. *Ther Drug Monit* 2005; 27: 666-676
- <sup>78</sup> Kovarik JM, Kaplan B, Tedesco Silva H, Kahan BD, Dantal J, McMahon L et al. Pharmacokinetics of an everolimus-cyclosporine immuno-suppressive regimen over the first 6 months after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2003; 4: 606-613

- 
- <sup>79</sup> Kovarik JM, Tedesco H, Pascual J, Civati G, Bizot MN, Geissler J et al. Everolimus therapeutic concentration range defined from a prospective trial with reduced-exposure cyclosporine in de novo kidney transplantation. *Ther Drug Monit* 2004; 26: 499-505
- <sup>80</sup> Shuker N, van Gelder T, Hesselink DA. Intra-patient variability in tacrolimus exposure: causes, consequences for clinical management. *Transplant Rev (Orlando)*. 2015;29:78
- <sup>81</sup> Shemesh E, Fine RN. Is calculating the standard deviation of tacrolimus blood levels the new gold standard for evaluating non-adherence to medications in transplant recipients? *Pediatr Transplant*. 2010;14:940-943
- <sup>82</sup> Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant*. 2012;12:388-399
- <sup>83</sup> Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant*. 2012;12:1157-1167
- <sup>84</sup> Rodrigo E, Segundo DS, Fernández-Fresnedo G, et al. Within-patient variability in tacrolimus blood levels predicts kidney graft loss and donor-specific antibody development. *Transplantation*. 2016;29:1158-1167
- <sup>85</sup> Knoll GA, MacDonald I, Khan A, et al. Mycophenolate mofetil dose reduction and the risk of acute rejection after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14:2381-2386
- <sup>86</sup> Bunnapradist S, Lentine KL, Burroughs TE, et al. Mycophenolate mofetil dose reductions and discontinuations after gastrointestinal complications are associated with renal transplant graft failure. *Transplantation*. 2006;82:102-107
- <sup>87</sup> Borra LC, Roodnat JJ, Kal JA, et al. High within-patient variability in the clearance of tacrolimus is a risk factor for poor long-term outcome after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25:2757-2763
- <sup>88</sup> Hsiao M, Fernandez HE, Gjertson D, et al. Monitoring nonadherence and acute rejection with variation in blood immunosuppressant levels in pediatric renal transplantation. *Transplantation*. 2011;92:918-922
- <sup>89</sup> Pizzo HP, Ettenger RB, Gjertson DW, et al. Sirolimus and tacrolimus-coefficient of variation is associated with rejection, donor-specific antibodies, and nonadherence. *Pediatr -Nephrol*. 2016;31:2345-2352
- <sup>90</sup> Valero R, Sánchez-Fructuoso A, Rodrigo E, et al. Variability of the Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors Is Correlated With Long-Term Renal Graft Survival. *Transpl Proceed*. 2019;51(2):341-343
- <sup>91</sup> Ventura-Aguiar P, Campistol JM, Diekmann F. Safety of mTOR inhibitors in adult solid organ transplantation. *Expert Opin Drug Saf*. 2016;15(3):303-319
- <sup>92</sup> Schena FP, Pascoe MD, Alberu J, del Carmen Rial M, Oberbauer R, Brennan DC, et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation*. 2009;87(2):233-242
- <sup>93</sup> Weir MR, Mulgaonkar S, Chan L, et al. Mycophenolate mofetil-based immunosuppression with sirolimus in renal transplantation: a randomized, controlled Spare-the-Nephron trial. *Kidney Int* 2011;79:897

- <sup>94</sup> Wali RK, Mohanlal V, Ramos E, et al. Early withdrawal of calcineurin inhibitors and rescue immunosuppression with sirolimus-based therapy in renal transplant recipients with moderate to severe renal dysfunction. *Am J Transplant* 2007; 7:1572–1583
- <sup>95</sup> Fijter JW, Holdaas H, Øyen O, et al. Early conversión from calcineurin inhibitor-to everolimus-based therapy following kidney transplantation: results of the randomized ELEVATE trial. *Am J Transpl* 2017;17:1853-1867
- <sup>96</sup> Ekberg H, Bernasconi C, Tedesco-Silva H, et al. Calcineurin inhibitor minimization in the Symphony study: observational results 3 years after transplantation. *Am J Transplant*. 2009;9(8):1876-1885
- <sup>97</sup> Campistol JM, de Fijter JW, Nashan B, Holdaas H, Vítko S, Legendre C. Everolimus and long-term outcomes in renal transplantation. *Transplantation*. 2011;92(3):S3-26
- <sup>98</sup> Nashan B. mTOR inhibitors and their role in modern concepts of immunosuppression. *World J Sur*. 2014;38(12):3199-3201 )
- <sup>99</sup> Koch M, Kantas A, Ramcke K, Drabik AI, Nashan B. Surgical complications after kidney transplantation: different impacts of immunosuppression, graft function, patient variables, and surgical performance. *Clin Transplant*. 2015; 29(3):252-260)
- <sup>100</sup> Kahan BD, Kinght R, Schoenberg L, Pobielski J, Kerman RH, Mahalatu K, et al. Ten years of sirolimus therapy for human renal transplantation: the University of Texas at Houston experience. *Transplant Proc*. 2003;35(3S):25S-34S
- <sup>101</sup> Kahan BD. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. The Rapamune US Study Group. *Lancet*. 2000;356(9225):194-202.)
- <sup>102</sup> Grim SA, Slover CM, Sankary H, Oberholzer J, Benedetti E, Clark NM. Risk factors for wound healing complications in sirolimus-treated renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2006;38(10):3520-3523)
- <sup>103</sup> Vítko S, Margreiter R, Weimar W, Dantal J, Kuypers D, Winkler M, et al. Three-year efficacy and safety results from a study of everolimus versus mycophenolate mofetil in de novo renal transplant patients. *Am J Transplant*. 2005;5(10):2521-2530
- <sup>104</sup> Hulbert AL, Delahunty AJ, Rajab A, Forbes RC, Winters HA. The utilization of sirolimus and the impact on wound-healing complications in obese kidney transplant recipients. *Clin Transplant*. 2013;27(4):E521-527)
- <sup>105</sup> Flechner SM, Glyda M, Cockfield S, Grinyó J, Legendre C, Russ G, et al. The ORION study: comparison of two sirolimus-based regimens versus tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients. *Am J Transplant*. 2011;11(8):1633-1644
- <sup>106</sup> Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vítko S, Nashan B, Gürkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2007;357(25):2562-2575

- 
- <sup>107</sup> Langer RM, Hené R, Vitko S, Christiaans M, Tedesco-Silva H Jr, Ciechanowski K, Cassuto E, Rostaing L, Vilatoba M, Macheis U, Ulbricht B, Junge G, Dong G, Pascual J. Everolimus plus early tacrolimus minimization: a phase III, randomized, open-label, multicentre trial in renal transplantation. *Transpl Int* 2012;25(5):592-602
- <sup>108</sup> Flechner SM, Goldfarb D, Solez K, Modlin CS, Mastroianni B, Savas K, Babineau D, Kurian S, Salomon D, Novick AC, Cook DJ. Kidney transplantation with sirolimus and mycophenolate mofetil-based immunosuppression: 5-year results of a randomized prospective trial compared to calcineurin inhibitor drugs. *Transplantation*. 2007;83(7):883-892
- <sup>109</sup> Salvadori M1, Scolari MP, Bertoni E, Citterio F, Rigotti P, Cossu M, Dal Canton A, Tisone G, Albertazzi A, Pisani F, Gubbiotti G, Piredda G, Busnach G, Sparacino V, Goepel V, Messa P, Berloco P, Montanaro D, Veroux P, Federico S, Bartezaghi M, Corbetta G, Ponticelli C. Everolimus with very low-exposure cyclosporine a in de novo kidney transplantation: a multicenter, randomized, controlled trial. *Transplantation*. 2009;88(10):1194-202
- <sup>110</sup> Fischer L, Klempnauer J, Beckebaum S, Metselaar HJ, Neuhaus P, Schemmer P, et al. A randomized, controlled study to assess the conversion from calcineurin-inhibitors to everolimus after liver transplantation—PROTEC. *Am J Transplant*. 2012;12(7):1855-1865
- <sup>111</sup> Tiong HY, Flechner SM, Zhou L, Wee A, Mastroianni B, Savas K, et al. A systematic approach to minimizing wound problems for de novo sirolimus-treated kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2009;87(2):296-302
- <sup>112</sup> Flechner SM, Zhou L, Derweesh I, Mastroianni B, Savas K, Goldfarb D, et al. The impact of sirolimus, mycophenolate mofetil, cyclosporine, azathioprine, and steroids on wound healing in 513 kidney-transplant recipients. *Transplantation*. 2003;76(12):1729-1734
- <sup>113</sup> Humar R, Kiefer FN, Berns H, Resink TJ, Battegay EJ. Hypoxia enhances vascular cell proliferation and angiogenesis in vitro via rapamycin (mTOR)-dependent signaling. *FASEB J*. 2002;16(8):771-780
- <sup>114</sup> Jia J, Dellinger A, Bulusu A, Weiss E, Rushing C, Li H, et al. Direct Evidence of Target Inhibition with anti-VEGF, EGFR, and mTOR Therapies in Clinical Model of Wound Healing. *Clin Cancer Res*. 2015;21(15):3442-3452
- <sup>115</sup> Akselband Y, Harding MW, Nelson PA. Rapamycin inhibits spontaneous and fibroblast growth factor beta-stimulated proliferation of endothelial cells and fibroblasts. *Transplant Proc*. 1991;23(6):2833-2836
- <sup>116</sup> Zaza G, Tomei P, Ria P, Granata S, Boschiero L, Lupo A. Systematic and nonrenal adverse effects occurring in renal transplant patients treated with mTOR inhibitors. *Clin Dev Immunol*. 2013;2013:403280
- <sup>117</sup> Moro JA, Almenar L, Martínez-Dolz L, Salvador A. mTOR inhibitors and unilateral edema. *Rev española Cardiol*. 2008;61(9):987-988
- <sup>118</sup> Pascual J, Boletis IN, Campistol JM. Everolimus (Certican) in renal transplantation: a review of clinical trial data, current usage, and future directions. *Transplant Rev*. 2006;20(1):1-18
- <sup>119</sup> Ersoy A, Koca N. Everolimus-induced lymphedema in a renal transplant recipient: a case report. *Exp Clin Transplant*. 2012;10(3):296-298

- 
- <sup>120</sup> Mäkinen T, Jussila L, Veikkola T, Karpanen T, Kettunen MI, Pulkkanen KJ, et al. Inhibition of lymphangiogenesis with resulting lymphedema in transgenic mice expressing soluble VEGF receptor-3. *Nat Med.* 2001;7(2):199-205
- <sup>121</sup> Gharbi C, Gueutin V, Izzedine H. Oedema, solid organ transplantation and mammalian target of rapamycin inhibitor/proliferation signal inhibitors (mTOR-I/PSIs). *Clin Kidney J.* 2014;7(2):115-120
- <sup>122</sup> MacDonald AS. A worldwide, phase III, randomized, controlled, safety and efficacy study of a sirolimus/cyclosporine regimen for prevention of acute rejection in recipients of primary mismatched renal allografts. *Transplantation.* 2001;71(2):271-280
- <sup>123</sup> Wiseman AC, McCague K, Kim Y, Geissler F, Cooper M. The effect of everolimus versus mycophenolate upon proteinuria following kidney transplant and relationship to graft outcomes. *Am J Transplant.* 2013;13(2):442-449
- <sup>124</sup> Sánchez-Fructuoso AI, Ruiz JC, Pérez-Flores I, Gómez-Alamillo C, Calvo Romero N, Arias M. Comparative analysis of adverse events requiring suspension of mTOR inhibitors: everolimus versus sirolimus. *Transplant Proc.* 2010;42(8):3050-3052
- <sup>125</sup> Van den Eesrwegh AJM, Karakiewicz P, Bavbek S, Rha SY, Bracarda S, Bahl A, et al. Safety of everolimus by treatment duration in patients with advanced renal cell cancer in an expanded access program. *Urology.* 2013;81(1):143-149
- <sup>126</sup> Kaplan B, Qazi Y, Wellen JR. Strategies for the management of adverse events associated with mTOR inhibitors. *Transplant Rev (Orlando).* 2014;28(3):126-133
- <sup>127</sup> Mahé E, Morelon E, Lechaton S, Sang K-HLQ, Mansouri R, Ducasse M-F, et al. Cutaneous adverse events in renal transplant recipients receiving sirolimus-based therapy. *Transplantation.* 2005;79(4):476-482
- <sup>128</sup> Augustine JJ, Knauss TC, Schulak JA, Bodziak KA, Siegel C, Hricik DE. Comparative effects of sirolimus and mycophenolate mofetil on erythropoiesis in kidney transplant patients. *Am J Transplant.* 2004;4(12):2001-2006
- <sup>129</sup> Su L, Tam N, Deng R, chen P, Li H, Wu L. Everolimus-based calcineurin-inhibitor sparing regimens for kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Int Urol Nephrol.* 2014;46(10):2035-2044
- <sup>130</sup> Lamming DW, Sabatini DM. A Central role for mTOR in lipid homeostasis. *Cell Metab.* 2013;18(4):465-469
- <sup>131</sup> Basic-Jukic N, Kes P, Bubic-Filipi L, Vranjican Z. Rhabdomyolysis and acute kidney injury secondary to concomitant use of fluvastatin and rapamycin in a renal transplant recipient. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(6):2036; author reply 2036-2037
- <sup>132</sup> Gyurus E, Kaposztas Z, Kahan BD. Sirolimus therapy predisposes to new-onset diabetes mellitus after renal transplantation: a long-term analysis of various treatment regimens. *Transplant Proc.* 2011;43(5):1583-1592

- 
- <sup>133</sup> Johnston O, Rose CL, Webster AC, Gill JS. Sirolimus is associated with new-onset diabetes in kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19(7):1411-1418
- <sup>134</sup> Bussiere CT, Lakey JRT, Shapiro AMJ, Korbitt GS. The impact of the mTOR inhibitor sirolimus on the proliferation and function of pancreatic islets and ductal cells. *Diabetologia*. 2006;49(10):2341-2349
- <sup>135</sup> Lewis GF, Carpentier A, Adeli K, Giacca A. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocr Rev*. 2002;23(2):201-229
- <sup>136</sup> Murakami N, Riella LV, Funakoshi T. Risk of metabolic complications in kidney transplantation after conversion to mTOR inhibitor: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant*. 2014;14(10):2317-2327
- <sup>137</sup> Roodnat JJ, Mulder PG, Rischen-Vos J, van Riemsdijk IC, van Gelder T, Zietse R, et al. Proteinuria after renal transplantation affects not only graft survival but also patient survival. *Transplantation*. 2001;72(3):438-444
- <sup>138</sup> Diekmann F, Gutiérrez-Dalmau A, López S, Cofán F, Esforzado N, Ricart MJ, et al. Influence of sirolimus on proteinuria in de novo kidney transplantation with expanded criteria donors: comparison of two CNl-free protocols. *Nephron Dial Transplant*. 2007;22(8):2316-2321
- <sup>139</sup> Franco AF V, Martini D, Abensur H, Noronha IL. Proteinuria in transplant patients associated with sirolimus. *Transplant Proc*. 2007; 22(8):2316-2321
- <sup>140</sup> Aliabadi AZ, Pohanka E, Seebacher G, Dunkler D, Kammerstätter D, Wolner E, et al. Development of proteinuria after switch to sirolimus-based immunosuppression in long-term cardiac transplant patients. *Am J Transplant*. 2008;8(4):854-861
- <sup>141</sup> Letavernier E, Bruneval P, Vandermeersch S, Perez J, Mandet C, Belair M-F, et al. Sirolimus interacts with pathways essential for podocyte integrity. *Nephron Dial Transplant*. 2009;24(2):630-638
- <sup>142</sup> Oroszlán M, Bieri M, Ligeti N, Farkas A, Meier B, Marti H-P, et al. Sirolimus and everolimus reduce albumin endocytosis in proximal tubule cells via an angiotensin II-dependent pathway. *Transpl Immunol*. 2010;23(3):125-132
- <sup>143</sup> Saurina A, Campistol JM, Piera C, Diekmann F, Campos B, Campos N, et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in chronic allograft dysfunction: changes in glomerular haemodynamics and proteinuria. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(2):488-493
- <sup>144</sup> Stallone G, Infante B, Pontrelli P, Gigante M, Montemurno E, Loverre A, et al. Sirolimus and proteinuria in renal transplant patients: evidence for a dose-dependent effect on slit diaphragm-associated proteins. *Transplantation*. 2011;91(9):997-1004
- <sup>145</sup> Servais A, Meas-Yedid V, Toupance O, Lebranchu Y, Thierry A, Moulin B, et al. Interstitial fibrosis quantification in renal transplant recipients randomized to continue cyclosporine or convert to sirolimus. *Am J Transplant*. 2009;9(11):2517-2523



- <sup>146</sup> Diekmann F, Budde K, Oppenheimer F, Tritsche L, Neumayer HH, Campistol JM. Predictors of success in conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus in chronic allograft dysfunction. *Am J Transplant*. 2004;4(11):1869-1875
- <sup>147</sup> Wadei HM, Zaky ZS, Keaveny AP, Rosser B, Jones M, Mai ML, et al. Proteinuria following sirolimus conversion is associated with deterioration of kidney function in liver transplant recipients. *Transplantation*. 2012;93(10):1006-1012
- <sup>148</sup> Sánchez-Fructuoso AI, Ruiz JC, Calvo N, et al. Everolimus as primary immunosuppression in kidney transplantation: experience in conversión from calcineurin inhibitors. *Transplantation*. 2012;93(4):398-405
- <sup>149</sup> Ponticelli C, Banfi G. Thrombotic microangiopathy after kidney transplantation. *Transpl Int*. 2006;19(10):789-794
- <sup>150</sup> Al-Nouri ZL, Reese JA, Terrell DR, Vesely SK, George JN. Drug-induced thrombotic microangiopathy: a systematic review of published reports. *Blood*. 2015;125(4):616-618
- <sup>151</sup> Nava F, Cappelli G, Mori G, Granito M, Madnoni G, Botta C, et al. Everolimus, cyclosporine, and thrombotic microangiopathy: clinical role and preventi tools in renal transplantation. *Transplant Proc*. 2014;46(7):2263-2268
- <sup>152</sup> Cortina G, Trojer R, Waldegger S, Schneeberger S, Gut N, Hofer J. De novo tacrolimus-induced thrombotic microangiopathy in the early stage after renal transplantation successfully treated with conversion to everolimus. *Pediatr Nephrol*. 2015;30(4):693-697
- <sup>153</sup> Morelon E, Stern M, Israël-Biet D, Correias JM, Danel C, Mamzer-Bruneel MF, et al. Characteristics of sirolimus-associated interstitial pneumonitis in renal transplant patients. *Transplantation*. 2001;72(5):787-790
- <sup>154</sup> Porta C, Osanto S, Ravaud A, et al. Management of adverse events associated with the use of everolimus in patients with advanced renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 2011;47:1287–98
- <sup>155</sup> Atkinson BJ, Cauley DH, Ng C, Millikan RE, Xiao L, Corn P, et al. Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitor-associated non-infectious pneumonitis in patients with renal cell cancer: predictors, management, and outcomes. *BJU Int*. 2014;113(3):376-382
- <sup>156</sup> Maroto JP, Hudes G, Dutcher JP, Logan TF, White CS, Krygowski M, et al. Drug-related pneumonitis in patients with advanced renal cell carcinoma treated with temsirolimus. *J Clin Oncol*. 2011;29(13):1750-1756
- <sup>157</sup> Pham PT, Pham PC, Danovitch GM, et al. Sirolimus-associated pulmonary toxicity. *Transplantation* 2004;77:1215–20
- <sup>158</sup> Kim J, Kundu M, Viollet B, Guan K-L. AMPK and mTOR regulate autophagy through direct phosphorylation of Ulk 1. *Nat Cell Biol*. 2011;13(2):132-141

- 
- <sup>159</sup> Farkas L, Farkas D, Ask K, Möller A, Gauldie J, Margetts P, et al. VEGF ameliorates pulmonary hypertension through inhibition of endothelial apoptosis in experimental lung fibrosis in rats. *J Clin Invest*. 2009;119(5):1298-1311
- <sup>160</sup> Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, et al. Phase 3 trial of everolimus for metastatic renal cell carcinoma: final results and analysis of prognostic factors. *Cancer*. 2010;116(18):4256-4265
- <sup>161</sup> White DA, Camus P, Endo M, Escudier B, Calvo E, Akaza H, et al. Noninfectious pneumonitis after everolimus therapy for advanced renal cell carcinoma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;182(3):396-403
- <sup>162</sup> Holdaas H, Midtvedt K, Asberg A. A drug safety evaluation of everolimus in kidney transplantation. *Expert Opin Drug Saf* 2012;11:1013–2291
- <sup>163</sup> Alexandru S, Ortiz A, Baldovi S, et al. Severe everolimus-associated pneumonitis in a renal transplant recipient. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:3353–5
- <sup>164</sup> Böhming GA, Regele H, Horl WH. Protocol biopsies after kidney transplantation. *Transp Int*. 2005;18(2):131-139
- <sup>165</sup> Colvin RB. Chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003; 349:2288–2290
- <sup>166</sup> Mannon RB. Therapeutic targets in the treatment of allograft fibrosis. *Am J Transplant* 2006; 6:867–875
- <sup>167</sup> Flechner SM, Goldfarb D, Modlin C, et al. Kidney transplantation without calcineurin inhibitor drugs: a prospective, randomized trial of sirolimus versus cyclosporine. *Transplantation* 2002; 74:1070–1076
- <sup>168</sup> Srinivas TR, Schold JD, Guerra G, et al. Mycophenolate mofetil/sirolimus compared to other common immunosuppressive regimens in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2007; 7:586–594
- <sup>169</sup> Johnson RW, Kreis H, Oberbauer R, Brattström C, Claesson K, Eris J. Sirolimus allows early cyclosporine withdrawal in renal transplantation resulting in improved renal function and lower blood pressure. *Transplantation* 2001; 72:777–786
- <sup>170</sup> Oberbauer R, Kreis H, Johnson RW, et al. Long-term improvement in renal function with sirolimus after early cyclosporine withdrawal in renal transplant recipients: 2-year results of the Rapamune Maintenance Regimen Study. *Transplantation* 2003; 76:364–370
- <sup>171</sup> Kreis H, Oberbauer R, Campistol JM, et al. Long-term benefits with sirolimus-based therapy after early cyclosporine withdrawal. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:809–817
- <sup>172</sup> Oberbauer R, Segoloni G, Campistol JM, Kreis H, Mota A, Lawen J, Russ G, Grinyó JM, Stallone G, Hartmann A, Pinto JR, Chapman J, Burke JT, Brault Y, Neylan JF; Rapamune Maintenance Regimen Study Group. Early cyclosporine withdrawal from a sirolimus-based regimen results in better renal allograft survival and renal function at 48 months after transplantation. *Transpl Int* 2005; 18:22-8
- <sup>173</sup> Gonwa TA, Hricik DE, Brinker K, et al. Improved renal function in sirolimus-treated renal transplant patients after early cyclosporine elimination. *Transplantation* 2002; 74:1560–1567

- <sup>174</sup> Baboolal K. A phase III prospective, randomized study to evaluate concentration-controlled sirolimus (rapamune) with cyclosporine dose minimization or elimination at six months in de novo renal allograft recipients. *Transplantation* 2003; 75:1404–1408
- <sup>175</sup> Watson CJ, Firth J, Williams PF, Bradley JR, Pritchard N, Chaudhry A, Smith JC, Palmer CR, Bradley JA. A randomized controlled trial of late conversion from CNI-based to sirolimus-based immunosuppression following renal transplantation. *Am J Transplant* 2005; 5:2496–2503
- <sup>176</sup> Cardinal H, Froidure A, Dandavino R, et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus in kidney transplant recipients: a retrospective cohort study. *Transplant Proc* 2009;41:3308
- <sup>177</sup> Stallone G, Infante B, Schena A, et al. Rapamycin for treatment of chronic allograft nephropathy in renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:3755–3762
- <sup>178</sup> Pontrelli P, Rossini M, Infante B, et al. Rapamycin inhibits PAI-1 expression and reduces interstitial fibrosis and glomerulosclerosis in chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2008; 85:125–134
- <sup>179</sup> Lebranchu Y, Thierry A, Toupance O, Westeel PF, Etienne I, Thervet E, Moulin B, Frouget T, Le Meur Y, Glotz D, Heng A-E, Onno C, Buchler M, Girardot-Seguin S, Hurault de Ligny B. Efficacy on Renal Function of Early Conversion from Cyclosporine to Sirolimus 3 Months After Renal Transplantation: Concept Study. *Am J Transplant* 2009;9:115
- <sup>180</sup> Lebranchu Y, Thierry A, Thervet E, et al. Efficacy and safety of early cyclosporine conversion to sirolimus with continued MMF-four-year results of the Postconcept study. *Am J Transplant* 2011;11:1665
- <sup>181</sup> Guba M, Pratschke J, Hugo C, et al. Renal function, efficacy, and safety of sirolimus and mycophenolate mofetil after short-term calcineurin inhibitor-based quadruple therapy in de novo renal transplant patients: one-year analysis of a randomized multicenter trial. *Transplantation* 2010;90:175
- <sup>182</sup> Guba M, Pratschke J, Hugo C, et al. Early conversion to a sirolimus-based, calcineurin-inhibitor-free immunosuppression in the SMART trial: observational results at 24 and 36 months after transplantation. *Transpl Int* 2012;25:416
- <sup>183</sup> Mjörnstedt L, Sørensen SS, von Zur Mühlen B, Jespersen B, Hansen JM, Bistrup C, Andersson H, Gustafsson B, Undset LH, Fagertun H, Solbu D, Holdaas H. Improved renal function after early conversion from a calcineurin inhibitor to everolimus: a randomized trial in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2012;12:2744-2753
- <sup>184</sup> Budde K, Lehner F, Sommerer C, Reinke P, Arns W, Eisenberger U, et al. Five-Year Outcomes in Kidney Transplant Patients Converted From Cyclosporine to Everolimus: The Randomized ZEUS Study. *Am J Transplant*. 2015;15(1):119-128
- <sup>185</sup> Heliman RL, Younan K, Wadei HM, Mai ML, Reddy KS, Chakkera HA, Gonwa TA. Results of a prospective randomized trial of sirolimus conversion in kidney transplant recipients on early corticosteroid withdrawal. *Transplantation* 2011;92:767-773
- <sup>186</sup> Weir MR, Pearson TC, Patel A, et al. Long-term follow-up of kidney transplant recipients in the Spare-the-Nephron-Trial. *Transplantation*. 2017;101(1):157-165

- 
- <sup>187</sup> Kumar J, Reccia I, Kusano T, Julie BM, Sharma A, Halawa A. Systemic meta-analysis assessing the short term applicability of early conversion to mammalian target of rapamycin inhibitors in kidney transplant. *World Transplant* 2017;7(2):144-151
- <sup>188</sup> Wu MS, Chang CT, Hung CC. Rapamycin in patients with chronic renal allograft dysfunction. *Clin Transpl* 2005; 19:236–242
- <sup>189</sup> Citterlo F, Scata MC, Violi P, et al. Rapid conversion to sirolimus for chronic progressive deterioration of the renal function in kidney allograft recipients. *Transplant Proc* 2003; 35:1292–1294
- <sup>190</sup> Diekmann F, Budde K, Slowinski T, et al. Conversion to sirolimus for chronic allograft dysfunction: long-term results confirm predictive value of proteinuria. *Transpl Int* 2008; 21:152–155
- <sup>191</sup> Ruiz JC, Campistol JM, Sanchez-Fructuoso AI, et al. Increase of proteinuria after conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus-based treatment in kidney transplant patients with chronic allograft dysfunction. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:3252–3257
- <sup>192</sup> Vincenti F, Charpentier B, Vanrenterghem Y, et al. A phase III study of belatacept-based immunosuppression regimens versus cyclosporine in renal transplant recipients (BENEFIT study). *Am J Transplant.* 2010;10(3):535-546
- <sup>193</sup> Pestana JO, Grinyo JM, Vanrenterghem Y, et al. Three-year outcomes from BENEFIT-EXT: a phase III study of belatacept versus cyclosporine in recipients of extended criteria donor kidneys. *Am J Transplant.* 2012;12(3):630-669
- <sup>194</sup> Rostaing L, Vincenti F, Grinyo J, et al. Long-term belatacept exposure maintains efficacy and safety at 5 years: results from the long-term extension of the BENEFIT study. *Am J Transplant.* 2013;13(11):2875-2883
- <sup>195</sup> Vincenti F, Rostaing L, Grinyo J, et al. Belatacept and long-term outcomes in kidney transplantation. *N Engl J Med.* 2016;374(4):333-343
- <sup>196</sup> Ferguson R, Grinyo J, Vincenti F, et al. Immunosuppression with belatacept-based, corticosteroid-avoiding regimens in de novo kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2011;11:66
- <sup>197</sup> Kirk AD, Guasch A, Xu H, et al. Renal transplantation using belatacept without maintenance steroids or calcineurin inhibitors. *Am J Transplant* 2014;14:1142
- <sup>198</sup> Diekmann F. Immunosuppressive minimization with mTOR inhibitors and belatacept. *Transplantation Int* 2015;ESOT28:921-927
- <sup>199</sup> 3C Study Collaborative Group, Haynes R, Harden P, et al. Alemtuzumab-based induction treatment versus basiliximab-based induction treatment in kidney transplantation (the 3C Study): a randomised trial. *Lancet.* 2014;384(9955):1684-1690
- <sup>200</sup> Sciarretta S, Volpe M, Sadoshima J. Mammalian target of rapamycin signaling a cardiac physiology and disease. *Circ Res* 2014;114(3):549-564

- <sup>201</sup> Stoumpos S, Jardine AG, Mark PB. Cardiovascular morbidity and mortality after kidney transplantation. *Transpl Int* 2015; 28(1):10-21
- <sup>202</sup> Paoletti E, Amidone M, Cassottana P, Gherzi M, Rolla D, Cannella G. Effect of sirolimus on left ventricular hypertrophy in kidney transplant recipients: a 1-year nonrandomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 2008;52:324
- <sup>203</sup> Paoletti E, Marsano L, Bellino D, Cassottana P, Cannella G. Effect of everolimus on left ventricular hypertrophy of de novo kidney transplant recipients: a 1 year, randomized, controlled trial. *Transplantation* 2012;93(5):503-508
- <sup>204</sup> Cruzado JM, Pascual J, Sánchez-Fructuoso, Serón D, Díaz JM, Rengel M, Oppenheimer F, Hernández D, Paravisini A, Saval N, Morales JM. On behalf of Evita Study Group. Controlled randomized study comparing the cardiovascular profile of everolimus with tacrolimus in renal transplantation. *Transplant International* 2016;29:1317-1328
- <sup>205</sup> Kurdi A, Martinet W, De Meyer GRY. mTOR inhibition and cardiovascular diseases: dyslipidemia and atherosclerosis. *Transplantation* 2018 Feb;102(2S Suppl 1):S44-S46
- <sup>206</sup> Vergès B. mTOR and Cardiovascular Diseases: Diabetes Mellitus. *Transplantation* 2018 Feb;102(2S Suppl 1):S47-S49
- <sup>207</sup> Jardine AG. Proceedings of the 13th internacional transplantation symposia: mTOR-inhibition: what have we learned and how so we best apply the larning. *Transplant Res.*2015;4(S1):4
- <sup>208</sup> Giessler EK, Schlitt HJ, Thomas G. mTOR, cancer and transplantation. *Am J Transplant.* 2008;8:2212–8
- <sup>209</sup> Giessler EK. Skin cancer in solid organ transplant recipients: are mTOR inhibitors a game changer? *Transplantation Research.* 2015
- <sup>210</sup> Gutiérrez-Dalmau A, Campistol JM. Immunosuppressive therapy and malignancy in organ transplant recipients: a systematic review. *Drugs* 2007; 67(8): 1167-1198
- <sup>211</sup> Pendón-Ruiz de Mier V, Navarro Cabello MD, Martínez Vaquera S et al. Incidente and long-term prognosis of cancer alter kidney transplantation. *Transplantation Proceedings*, vol 47, no 9, pp. 2618-2621, 2015
- <sup>212</sup> Carezco C, Assenat E, Faure S et al. Tacrolimus and the risk of solid cancers alter liver transplant: a dose effect relationship. *American Journal of Transplantation*, vol 15, no.3, pp. 678-686, 2015
- <sup>213</sup> Crespo-Leiro MG, Alonso-Pulpón L, Vázquez de Prada JA et al. Malignancy alter Herat transplantation: incidence, prognosis and risk factors. *American Journal of Transplantation*, vol 8, no.5, pp. 1031-1039, 2008
- <sup>214</sup> Hojo M, Morimoto T, Maluccio M et al. Cyclosporine induces cancer progresión by a cell-autonomous mechanism. *Nature*, vol 397, no. 6719, pp. 530-534, 1999

- 
- <sup>215</sup> Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nature Medicine*, vol.8, no. 2, pp. 128-135, 2002
- <sup>216</sup> Gutiérrez-Dalmau A, Campistol JM. The role of proliferation signal inhibitors in post-transplant malignancies. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22(1):i11-i16
- <sup>217</sup> Koehl GE, Schlitt HJ, Geissler EK. Rapamycin and tumor growth: mechanisms behind its anticancer activity. *Transplant Rev* 2005; 19: 20-31
- <sup>218</sup> Kauffman HM, Cherikh WS, McBride MA, Cheng Y, Hanto DW. Post-transplant de novo malignancies in renal transplant recipients: the past and present. *Transplant Int* 2006; 19:607-620
- <sup>219</sup> Pascual J, Royuela A, Fernández AM, Herrero I, Delgado JF, Solé A, et al., for the Spanish Society of Transplantation Virological and Immune Response Investigation Study Group. Role of mTOR inhibitors for the control of viral infection in solid organ transplant recipients. *Transplant Infect Dis* 2016;18:819-831
- <sup>220</sup> García K, Sun Z, Mattson E, Li L Smyth K, Xiao Z. IL-12 is required for mTOR regulation of memory CTLs during viral infection. *Genes Immun* 2014;15(6):413-423
- <sup>221</sup> Bowman LJ, Brueckner AJ, Doligalski CT. The Role of mTOR Inhibitors in the Management of Viral Infections: A Review of Current Literature. *Transplantation*. 2018 Feb;102(2S Suppl 1): S50-S59
- <sup>222</sup> Tang-Feldman YJ, Lochhead GR, Lochhead SR, Yu C, Pomeroy C. Interleukin-10 repletion suppresses pro-inflammatory cytokines and decreases liver pathology without altering viral replication in murine cytomegalovirus (MCMV)-infected IL-10 knockout mice. *Inflamm Res* 2011;60(3):233-243
- <sup>223</sup> Egli A, Kumar D, Broscheit C, O'Shea D, Humar A. Comparison of the effect of Standard and novel immunosuppressive drugs on CMV-specific T-cell cytokine profiling. *Transplantation* 2013;95(3):448-455
- <sup>224</sup> Havenith SH, Yong SL, van Donselaar –van der Pant KA, van Lier RA, ten Berge IJ, Bemelman FJ. Everolimus-treated renal transplant recipients have a more robust CMV-specific CD8+ T-cell response compared with cyclosporine- or mycophenolate-treated patients. *Transplantation* 2013;95(1):184-191
- <sup>225</sup> Nashan B, Gaston R, Emery V, Säemann MD, Mueller NJ, Couzi L, et al. Review of cytomegalovirus infection findings with mammalian target of rapamycin inhibitor-based immunosuppressive therapy in de novo renal transplant recipients. *Transplantation* 2012;93:1075-1085
- <sup>226</sup> Andrassy J, Hoffmann VS, Rentsch M, Stangl M, Habicht A, Meiser B, Fischereder M, Jauch KW, Guba M. Is cytomegalovirus prophylaxis dispensable in patients receiving an mTOR inhibitor-based immunosuppression? A systematic review and meta-analysis. *Transplantation* 2012;94(12):1208-1217
- <sup>227</sup> Tedesco-Silva H, Felipe C, Ferreira A, Cristelli M, Oliveira N, Sandes Freitas t, et al. Reduced incidence of cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients receiving everolimus and reduced tacrolimus dose. *Am J Transplant* 2015;15:2655-2664
- <sup>228</sup> Pascual J, Berger SP, Witzke O, et al. Everolimus with reduced calcineurin inhibitor exposure in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*.2018;29(7):1979-1991

- <sup>229</sup> Boothpur R, Brennan DC. Human polyoma viruses and disease with emphasis on clinical BK and JC. *J Clin Virol* 2010;47:306-312
- <sup>230</sup> Hirsch HH, Brennan DC, Drachenberg CB, Ginevri F, Gordon J, et al. Polyomavirus-associated nephropathy in renal transplantation: interdisciplinary analyses and recommendations. *Transplantation*. 2005;79(10):1277-1286
- <sup>231</sup> Rahamimov R, Lustig S, Tovar A, Yussim A, Bar-Nathan N, Shaharabani E, et al. BK polyoma virus nephropathy in kidney transplant recipient: the role of the new immunosuppressive agents. *Transplant Proc* 2003;35:604-605
- <sup>232</sup> Brennan DC, Agha I, Bohl DL, Schnitzler MA, Hardinger KL, Lockwood M, et al. Incidence of BK with tacrolimus versus cyclosporine and impact of preemptive immunosuppression reduction. *Am J Transplant* 2005;5:582-594
- <sup>233</sup> Borni-Duval C, Caillard S, Olagne J, Perrin P, Braun-Parvez L, et al. Risk factors for BK virus infection in the era of therapeutic drug monitoring. *Transplantation* 2013;95(12):1498-505
- <sup>234</sup> Hirsch HH, Vincenti F, Friman S, Tuncer M, Citterio F et al. Polyomavirus BK replication in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus or cyclosporine: a prospective, randomized, multicenter study. *Am J Transplant*. 2013;13:136-45
- <sup>235</sup> Dharnidharka V, Cherikh W, Abbott KC. An OPTN analysis of national registry data on treatment of BK virus allograft nephropathy in the United States. *Transplantation*. 2009;87:1019–1026
- <sup>236</sup> Wojciechowski D, Chandran S, Webber A, Hirose R, Vincenti F. Mycophenolate mofetil withdrawal with conversion to everolimus to treat BK virus infection in kidney transplant recipients. *Transplantation Proceedings*, 49, 1773-1778 (2017)
- <sup>237</sup> McCabe MT, Low JA, Imperiale MJ, Day ML. Human polyomavirus BKV transcriptionally activates DNA methyl-transferase 1 through the pRb/E2F pathway. *Oncogene* 2006;25:2727-2735
- <sup>238</sup> Liacini A, Seamone ME, Muruve DA, Tibbles LA. Anti-BK virus mechanisms of sirolimus and leflunomide alone and in combination: toward a new therapy for BK virus infection. *Transplantation* 2010;90:1450-1457
- <sup>239</sup> Egli A, Coolí S, Dieckenmann M, Hirsch HH,. Inhibition of polyomavirus BK-specific T-cell responses by immunosuppressive drugs. *Transplantation* 2009;88:1161-1168
- <sup>240</sup> Hardinger KL, Koch MJ, Bohl DJ, Storch GA, Brennan DC. BK-virus and the impact of preemptive immunosuppression reduction: 5-year results. *Am J Transplant* 2010;10:407–415
- <sup>241</sup> Ramos E, Drachenberg CB, Papadimitriou JC, Hamze O, Fink JC et al. Clinical course of polyoma virus nephropathy in 67 renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:2145–2151
- <sup>242</sup> Ginevri F, Azzi A, Hirsch HH, Basso S, Fontana I et al. Prospective monitoring of polyomavirus BK replication and impact of pre-emptive intervention in pediatric kidney recipients. *Am J Transplant*. 2007;7:2727–2735

- 
- <sup>243</sup> Schaub S, Hirsch HH, Dickenmann M, Steiger J, Mihatsch MJ et al. Reducing immunosuppression preserves allograft function in presumptive and definitive polyomavirus-associated nephropathy. *Am J Transplant*. 2010;10:2615–2623
- <sup>244</sup> Almeras C, Foulongne V, Garrigue V, Szwarc I, Vetromile F et al. Does reduction in immunosuppression in viremic patients prevent BK virus nephropathy in de novo renal transplant recipients? A prospective study. *Transplantation*. 2008;85:1099–1104
- <sup>245</sup> Saad ER, Bresnahan BA, Cohen EP, Lu N, Orentas RJ et al. Successful treatment of BK viremia using reduction in immunosuppression without antiviral therapy. *Transplantation* 2008;85:850–854
- <sup>246</sup> Sánchez Fructuoso AI, Calvo N, Pérez-Flores I, Valero R, Rodríguez-Sánchez B, García de Viedma D, et al. Mammalian target of rapamycin signal inhibitors could play a role in the treatment of BK polyomavirus nephritis in renal allograft recipients. *Transpl Infect Dis* 2011;13:584-591
- <sup>247</sup> Wali RK, Drachenberg C, Hirsch HH, Papadimitriou J, Nahar A et al. BK virus-associated nephropathy in renal allograft recipients: rescue therapy by sirolimus- based immunosuppression. *Transplantation* 2004; 78: 1069–1073
- <sup>248</sup> Schold JD, Rehman S, Kayler LK, Magliocca J, Srinivas TR, et al. Treatment for BK virus: incidence, risk factors and outcomes for kidney transplant recipients in the United States. *Transpl Int* 2009; 22: 626–634
- <sup>249</sup> Isakova T, Xie H, Messinger S, Cortazar F, Scialla JJ et al. Inhibitors of mTOR and Risks of Allograft Failure and Mortality in Kidney Transplantation. *Am J Transplant* 2013; 13: 100–110
- <sup>250</sup> Knoll GA, Humar A, Fergusson D, Johnston O, House AA, et al. Levofloxacin for BK virus prophylaxis following kidney transplantation: a randomized clinical trial. *JAMA* 2014 26;312(20):2106-14
- <sup>251</sup> Lee BT, Gabardi S, Grafals M, Hofmann RM, Akalin E, et al. Efficacy of levofloxacin in the treatment of BK viremia: a multicenter, double-blinded, randomized, placebo-controlled trial. *Clin J Am Soc Nephrol* 2014;9(3):583-9
- <sup>252</sup> Guasch A, Roy-Chaudhury P, Woodle ES, Fitzsimmons W, Holman J, et al; FK778 BK Nephropathy Study Group. Assessment of efficacy and safety of FK778 in comparison with standard care in renal transplant recipients with untreated BK nephropathy. *Transplantation*. 2010;90(8):891-7
- <sup>253</sup> van Doesum WB, Gard L, Bemelman FJ, de Fijter JW, Homan van der Heide JJ, et al. Incidence and outcome of BK polyomavirus infection in a multicenter randomized controlled trial with renal transplant patients receiving cyclosporine-mycophenolate sodium-, or everolimus-based low-dose immunosuppressive therapy. *Transpl Infect Dis* 2017;19(3)
- <sup>254</sup> Tedesco Silva Jr H, Cibrik D, Jonson T, Lackova E, Mange K, Panis C, et al. Everolimus plus reduced-exposure CsA versus mycophenolic acid plus reduced-exposure CsA in renal-transplant recipients. *Am J Transplant* 2010;95:933-942
- <sup>255</sup> Budde K, Becker T, Arns W, Sommerer C, Reinke P et al. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor- free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet*. 2011;377:837–847



- <sup>256</sup> Cibrik D, Silva HT Jr, Vathsala A, Lackova E, Cornu-Artis C, Walker RG, et al. Randomized trial of everolimus-facilitated calcineurin inhibitor minimization over 24 months in renal transplantation. *Transplantation* 2013;95:933-942
- <sup>257</sup> Dharnidharka V, Cherikh W, Abbott KC. An OPTN analysis of national registry data on treatment of BK virus allograft nephropathy in the United States. *Transplantation* 2009;87:1019–1026
- <sup>258</sup> Mallat SG, Tanios BY, Itani HS, Lotfi T, McMullan C, et al. CMV and BKPyV Infections in Renal Transplant Recipients Receiving an mTOR Inhibitor-Based Regimen Versus a CNI-Based Regimen: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Clin J Am Soc Nephro.* 2017;12(8):1321-1336
- <sup>259</sup> KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009;9 Suppl 3:S1–155
- <sup>260</sup> Le J, Durand CM, Agha I, Brennan DC. Epstein-Barr virus and renal transplantation. *Transplant Rev (Orlando).* 2017 Jan;31(1):55-60
- <sup>261</sup> Cullis B, et al. Sirolimus-Induced Remission of Posttransplantation Lymphoproliferative Disorder. *Am J Kidney Dis* 2006;47:e67-72
- <sup>262</sup> Sampaio MS, et al. Association of Immunosuppressive Maintenance Regimens With Posttransplant Lymphoproliferative Disorder in Kidney Transplant Recipients. *Transplantation* 2012;93:73-81
- <sup>263</sup> Stallone G, Schena A, Infante B, et al. Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *N Engl J Med.* 2005;352:1317–1323
- <sup>264</sup> Yaich S, Charfeddine K, Zaghdane S, et al. Sirolimus for the treatment of Kaposi sarcoma after renal transplantation: a series of 10 cases. *Transplant Proc* 2012;44:2824–2826
- <sup>265</sup> Tedesco-Silva HJ, Felipe CR, Pestana JOM. Reviewing fifteen years of experience with sirolimus. *Transplantation Research.* 2015
- <sup>266</sup> Diekmann F, Campistol JM, Hoores L. Practical considerations for the use of mTOR inhibitors. *Transplantation Research.* 2015
- <sup>267</sup> Nashan B, Curtis J, Ponticelli C, Mourad G, Jaffe J, Haas T, the 156 Study Group. Everolimus and Reduced-Exposure Cyclosporine in de novo Renal-Transplant Recipients: A Three-Year Phase II, Randomized, Multicenter, Open-Label Study. *Transplantation* 2004;78(9):1332-1340
- <sup>268</sup> Vitko S, Tedesco H, Eris J, Pascual J, Whelchel J, Magee JC, Campbell S, Civati G, Bourbigot B, Filho GA, Leone J, Garcia VD, Rigotti P, Esmeraldo R, Cambi V, Hass T, Jappe A, Bernhardt P, Geissler J, Cretin N. Everolimus with Optimized Cyclosporine Dosing in Renal Transplant Recipients: 6-Month Safety and Efficacy Results of Two Randomized Studies. *Am J Transpl* 2004;4:626-635
- <sup>269</sup> Kanzelmeyer NK, Ahlenstiel T, Kreuzer M, Becker JU, Pape L. Correlations with six-month protocol biopsy findings in pediatric transplant recipients on low- and regular-dose CNI regimens. *Clin Transplant* 2013;27(2):319-323

- <sup>270</sup> Mithani Z, Gralla J, Adebify O, Klem P, Cooper JE, Wiseman AC. De novo donor-specific antibody formation in tacrolimus-based, mycophenolate versus mammalian target of rapamycin immunosuppressive regimens. *Experimental and Clinical Transplantation* 2018;16(1):23-30
- <sup>271</sup> Ojo AO, Morales JM, González-Molina M, Steffick DE, Luan FL, Merion RM, Ojo T, Moreso F, Arias M, Campistol JM, Hernández D, Serón D and for the Scientific Registry of Transplant Recipients and the Spanish Chronic Allograft Study Group. Comparasion of the long-term outcomes of kidney transplantation: USA versus Spain. *Nephrol Dial Transplant* 2013;28:213-220
- <sup>272</sup> Ruiz San Millán JC, López-Hoyos M, San Segundo D, Quintela E, Rodrigo E, Gómez-Alamillo C, Romón I, Arias M. Predictive factors of allosensitization in renal transplant patients switched from calcineurin to mTOR inhibitors. *Transpl Int* 2014;27(8):847-856
- <sup>273</sup> Covic A, Gusbeth-Tatomir P, Covic M. Cardiovascular risk after renal transplantation (II): ischemic heart disease, hypercholesterolemia, hyperhomocysteinemia and smoking. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2002;106(1):30-34
- <sup>274</sup> Boratynska M, Banasik M, Watorek E, Klinger M, Dorobisz A, Szyber P. Influence of hypercholesterolemia and acute graft rejection on chronic nephropathy development in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 2003;35(6):2209-2012
- <sup>275</sup> Modelli de Andrade LG, Tedesco-Silva H. Critical análisis of graft los and death in kidney transplant recipientes treated with mTOR inhibitors. *J Bras Nefrol* 2017;39(1):70-78
- <sup>276</sup> Gatault P, Bertrand D, Büchler M, Colosio C, Hurault de Ligny B, Weestel PF, et al. Eight-year results of the Spiesser study, a randomized trial comparing de novo sirolimus and cyclosporine in renal transplantation. *Transpl Int* 2016;29:41-50
- <sup>277</sup> Ruiz JC, Diekmann F, Campistol JM, Sánchez-Fructuoso A, Rivera C, Oliver J, Fernández-Fresnedo G, Arias M. Evolution of proteinuria after conversión from calcineurin inhibitors (CNI) to sirolimus (SRL) in renal transplant patients: a multicenter study. *Transplant Proc* 2005;37:3833-3835